

Untersuchungen zur Biogenese
der herzwirksamen Glykoside
in Digitalis lanata Ehrh.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

RITA FREIER

aus Bokel/Krs. Wesermünde

Marburg 1977

Druck: Mauersberger, Marburg

Untersuchungen zur Biogenese
der herzwirksamen Glykoside
in *Digitalis lanata* Ehrh.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

RITA FREIER

aus Bokel/Krs. Wesermünde

Marburg 1977

Druck: Mauersberger, Marburg



Vom Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

als Dissertation angenommen am: 26.10.1977

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.1977

Berichterstatter: Prof. Dr. M. Wichtl

Mitberichterstatter: Prof. Dr. P. H. List

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut
für Pharmazeutische Biologie der Philipps-
Universität Marburg/Lahn unter Leitung von

Herrn Prof. Dr. M. Wichtl.

Für die Förderung und die wertvollen Anregungen möchte ich Herrn Professor Wichtl herzlich danken.

Herrn Gartenmeister G. Pabst danke ich für die sorgsame gärtnerische Betreuung der Kulturen und Herrn H. Frös für seine Hilfe bei der Extraktion der Drogen.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Dr. J.C. Köhler für seinen Rat bei der Durchführung der Radioaktivitätsmessungen.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552328_0016

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Untersuchungen über die quantitativen Veränderungen der Glykosidzusammensetzung bei <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. im Verlauf der Entwicklung	6
2.1. Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten in <i>Digitalis lanata</i> vorkommenden Glykoside	6
2.2. Untersuchungen der quantitativen Glykosidzusammensetzung vom Stadium der Keimpflanze bis zum Ende der ersten Vegetationsperiode	10
2.2.1. Übersicht über die zu verschiedenen Zeitpunkten vorgenommenen Untersuchungen	10
2.2.2. Untersuchung von Keimpflanzen	12
2.2.3. Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen bei den sich weiter entwickelnden Pflanzen unter Berücksichtigung der Glykosidverteilung innerhalb der Rosette	15
2.2.3.1. Anmerkungen zu Wachstum und Entwicklung der Pflanzen sowie zur Veränderung des Gesamtglykosidgehaltes im Verlauf der Entwicklung	15
2.2.3.2. Veränderungen der Glykosidzusammensetzung während der ersten Vegetationsperiode	25
2.2.3.3. Glykosidverteilung innerhalb der Rosette	35
2.2.3.4. Glykosidverteilung innerhalb des Blattes	44
2.2.4. Untersuchung von Pflanzen, die winterlichen Temperaturen ausgesetzt waren	55
2.3. Untersuchungen an <i>Digitalis lanata</i> und <i>Digitalis purpurea</i> während und nach der Blüte	60

- 2.3.1. Glykosidgehalt von Blättern, Kelchblättern und Blüten bei *Digitalis purpurea*
- 2.3.2. Glykosidgehalt von Kelchblättern und Blüten bei *Digitalis lanata*
- 2.3.3. Glykosidgehalt von Rosette und Wurzeln bei *Digitalis lanata* nach der Blüte
3. Versuche mit ^{14}C -markierten Glykosiden
 - 3.1. Vorversuch
 - 3.2. Hauptversuch
 - 3.2.1. Gewinnung von markierten Glykosiden mittels Biosynthese
 - 3.2.2. Isolierung der Glykoside
 - 3.2.3. Applikation der ^{14}C -markierten Glykoside an *Digitalis lanata*-Pflanzen
 - 3.2.4. Untersuchung der ^{14}C -markierten Pflanzen
 - 3.2.4.1. Untersuchung der Glykoside
 - 3.2.4.2. Untersuchung der Startzone
4. Versuche zur quantitativen Direktauswertung von papierchromatographisch aufgetrennten *Digitalis*-extrakten
5. Diskussion der Untersuchungsergebnisse
 - 5.1. Diskussion der Veränderungen der Glykosidzusammensetzung im Verlauf der ersten Vegetationsperiode
 - 5.2. Diskussion der Ergebnisse mit ^{14}C -markierten Glykosiden
 - 5.2.1. Theoretische Überlegungen zur Umwandlung der Zuckerkette
 - 5.2.2. Interpretation der gemessenen Aktivitäten

	Seite
5.2.2.1. Bildung und Umwandlung der Lanatoside	119
5.2.2.2. Umwandlung der Digitoxose enthal- tenden Diglykoside	121
5.2.2.3. Umwandlung der Fucose und Digitalose enthaltenden Diglykoside	122
5.2.2.4. 12 β bzw. 16 β -Hydroxylierung	124
5.2.2.5. Zusammenfassung der diskutierten Umwandlungsmöglichkeiten	125
6. Experimenteller Teil	131
6.1. Experimentelle Durchführung der Unter- suchungen über die quantitativen Ver- änderungen der Glykosidzusammensetzung	131
6.1.1. Herkunft und Anbau der untersuchten Pflanzen	131
6.1.2. Ernte und Trocknung	131
6.1.3. Herstellung des Glykosidextraktes	132
6.1.4. PC-Trennung	133
6.1.5. Quantitative Bestimmung	135
6.1.5.1. Detektion und spektralphotometrische Auswertung	135
6.1.5.2. Versuche zur Direktauswertung von Papierchromatogrammen	139
6.2. Experimentelle Durchführung der Versuche mit ^{14}C -markierten Glykosiden	140
6.2.1. Applikation von ^{14}C -markiertem Natrium- acetat bzw. ^{14}C -markierten Glykosiden an Digitalis lanata-Pflanzen	140
6.2.2. Ernte und Extraktion der mit ^{14}C -Acetat behandelten Pflanzen	141

- 6.2.3. Isolierung der Glykoside
- 6.2.4. Untersuchung der mit ^{14}C -markierten Glykosiden behandelten Pflanzen
- 6.2.4.1. Aufarbeitung des getrockneten Pflanzenmaterials
- 6.2.4.2. Messung der Radioaktivität
7. Zusammenfassung
8. Tabellen- und Abbildungsanhang
9. Literaturverzeichnis

Verzeichnis der in Tabellen und Abbildungen verwendeten Abkür-
zungen und Zahlensymbole

(Numerierung der Glykoside in der Reihenfolge steigender Rf-Werte; mengenmäßig unbedeutende Glykoside tragen die Nummer des Glykosids mit nächstniedrigerem Rf-Wert und sind zusätzlich mit einem Buchstaben gekennzeichnet.)

1	Startfleck	
2	Glucogitofucosid	Glgitofuc.
3	Digitalinum verum	D.verum
4	Glucodigifucosid	Gldigifuc.
5	Glucoverodoxin	Glverodox.
5a	Glucodigitoxigeninglucomethylosid	
6	Glucogitorosid	Glgitor.
6a	Desacetyl lanatosid C	
7	Odorobiosid G	Odorob.G
7a	Lanatosid D	Lan. D
7b	Purpureaglykosid B	Purp.B
8	Glucolanadoxin	Gllanadox.
8a	} ?	
8b		
9	Glucosylatromonosid	Glevatro.
10	Lanatosid C	Lan. C
10a	Glucodigitoxigeninbisdigitoxosid	
10b	Purpureaglykosid A	Purp. A
11	Lanatosid B	Lan. B
12	Strospesid	
12a	Digiprosid	
13	Lanatosid E	Lan. E
14	Lanatosid A	Lan. A
15	Sekundärglykoside	Sekundärgl.

1. Einleitung und Problemstellung

Nur wenige Arzneipflanzen sind einer so intensiven phytochemischen und pharmakologischen Prüfung unterzogen worden wie *Digitalis purpurea* L. und *Digitalis lanata* Ehrh. Über einige wichtige Teilgebiete ist aber auch heute erst sehr wenig bekannt, so daß man die Digitalisforschung noch keineswegs als abgeschlossen ansehen darf.

Digitalis purpurea wurde schon lange Zeit vor William Withering's grundlegender Arbeit ¹⁾ über die Eigenschaften und medizinische Anwendung des Fingerhuts (1785) in verschiedener Weise therapeutisch genutzt - zu entnehmen der lesenswerten Dissertation von A. Overhamm (Marburg, 1976) ²⁾.

Digitalis lanata gewann dagegen erst ab 1930 zunehmend an Beachtung, als es Smith ³⁾ gelang Digoxin aus den Blättern zu gewinnen. In den darauffolgenden Jahren (1933 - 35) führten die Untersuchungen von Stoll und Kreis ^{4,5)} zur Isolierung weiterer Glykoside aus *Digitalis lanata* und *Digitalis purpurea*. Die daraufhin wachsende Bedeutung von *Digitalis lanata* begründet sich hauptsächlich auf deren Gehalt an Digoxigeninglykosiden (Digoxin, Acetyldigoxin, Lanatosid C), die sich bei therapeutischer Anwendung gegenüber den Digitoxigeninderivaten durch eine geringere Kumulationsgefahr auszeichnen, in *Digitalis purpurea* aber nicht vorkommen.

Nach den Arbeiten von Stoll und Kreis schien zunächst ein Abschluß in der Digitalisforschung erreicht zu sein. Erst die Entwicklung neuer chromatographischer Trennverfahren, vor allem der Papier- und Säulenchromatographie, gab den Anstoß zur

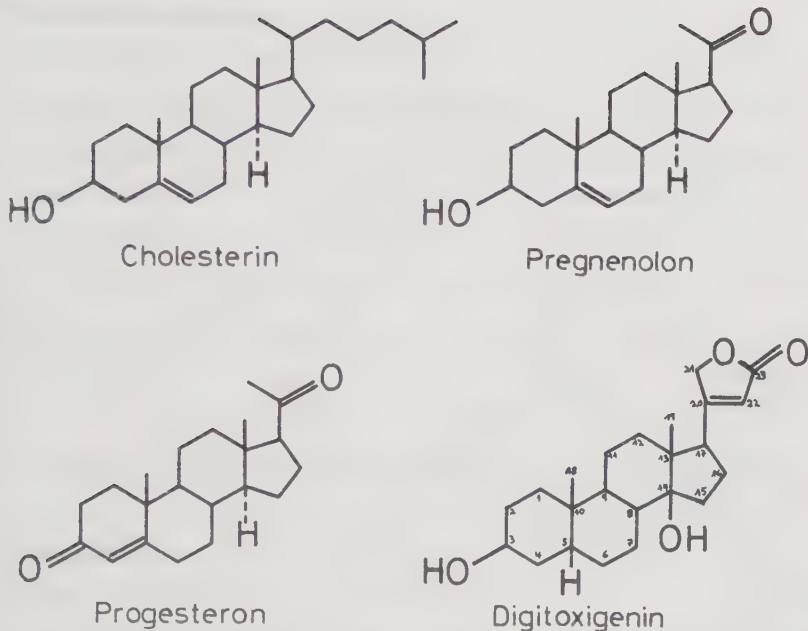
Wiederaufnahme der Untersuchungen. Bis 1965 wurden über 60 Glikoside aus den Blättern von *Digitalis lanata* und mehr als 30 *Digitalis purpurea* bekannt. Deren Trennung durch Kombination von Säulen- und Papierchromatographie wurde 1966 von Kaiser ausführlich beschrieben. Die Erforschung der Biosynthese begann bei den Digitalisglykosiden - im Vergleich zu den Alkaloiden überraschend spät.

1964 zeigten von Ew und Reichstein ⁷⁾, daß Mevalonsäure im Aufbau der Cardenolide benutzt wird, wobei aber die C-Atome 22 und 23 (s. Abbildung 1) nicht aus der Mevalonsäure stammen. Vermutet hier als zweiten Baustein das Acetat. Zahlreiche Autoren fanden Hinweise dafür, daß der Biosyntheseweg zum Aufbau der Cardenolidaglyka von der Mevalonsäure über Cholesterin und Pregnenolon verläuft.

Erstmalig konnten 1964 Tschesche und Lilienweiss ⁸⁾ zeigen, daß 21- ¹⁴C-markiertes Pregnenolonglucosid von *Digitalis lanata* in die entsprechend markierten Genine der A-, B- und C-Reihe umgewandelt wird. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Heftmann und Mitarb. ⁹⁾ 1967.

Caspi und Mitarb. ¹⁰⁾ wiesen 1966 nach, daß durch *Digitalis purpurea* eine Umwandlung von Cholesterin in Pregnenolon erfolgt. Den Beweis für einen entsprechenden Biosyntheseschritt bei *Digitalis lanata* konnten 1969 Bennet und Heftmann erbringen ¹¹⁾.

Abbildung 1 :



Unklar ist zur Zeit noch die Absättigung der Δ^5 -Doppelbindung im Pregnenolon sowie die Reihenfolge der Hydroxylierungen. Arbeiten hierzu - u.a. von Tschesche und Mitarb. ^{12,13)} haben noch keine endgültige Klärung erbracht.

Insgesamt machen diese Ausführungen deutlich, daß die Grundzüge der Cardenolidbiogenese weitgehend bekannt sind. Dennoch bleiben zahlreiche Fragen offen: so nach dem Ort der Biosynthese, den daran beteiligten Enzymen und dem Zeitpunkt der Lanatosidbildung.

Für die industrielle Gewinnung der Glykoside werden die Blätter im Herbst des ersten Jahres geerntet, da erfahrungs-

gemäß der Lanatosid C-Gehalt um diese Zeit besonders hoch ist. Es erstaunt jedoch, daß über die Veränderungen der Glykosidzusammensetzung im Laufe der Vegetationsperiode von *Digitalis lanata* keine Untersuchungen vorliegen bzw. darüber nichts veröffentlicht wurde. Unklar ist auch zu welchem Zeitpunkt die Bildung der Lanatoside einsetzt, von denen - nach Untersuchungen von Wichtl ¹⁴⁾ - in den Keimblättern nur Lanatosid A in Spuren vorkommt. Aus einer Arbeit von Balbaa und Mitarb. ¹⁵⁾ ist auf Grund der dort abgebildeten Dünnschichtchromatogramme zu entnehmen, daß zuerst Lanatosid A und etwa 100 Tage nach der Aussaat erstmalig Lanatosid B und C auftreten.

Ebenso spärlich sind die Kenntnisse über die biosynthetischen Zusammenhänge der Glykoside untereinander.

Bisher sind hierzu nur kurze Untersuchungen von Nánási und Mitarb. ^{16,17)} (1974 und 1975) über die Umwandlung der Lanatoside und der zugehörigen Sekundärglykoside durchgeführt worden. Über die für die einzelnen Umwandlungsschritte verantwortlichen Enzyme und den Aufbau der Zuckerkette ist praktisch nichts bekannt.

Wir erhofften uns durch regelmäßige Bestimmungen der quantitativen Glykosidzusammensetzung während der ersten Vegetationsperiode u.a. Hinweise auf mögliche biosynthetische Zusammenhänge zwischen den vorkommenden Diglykosiden und den Lanatosiden (Tetraglykosiden). Ferner war die Untersuchung der Glykosidverteilung in den verschiedenen Organen der Pflanze (Wurzeln, Blätter, Blüten) sowie der Verteilung innerhalb

der Blattrosette und des einzelnen Blattes bei unterschiedlichen Entwicklungsstadien vorgesehen.

Fußend auf den Ergebnissen der quantitativen Veränderungen der Glykosidzusammensetzung innerhalb der Vegetationsperiode sollte mit Hilfe ^{14}C -markierter Di- und Tetraglykoside deren biosynthetische Umwandlung in der Pflanze verfolgt werden.

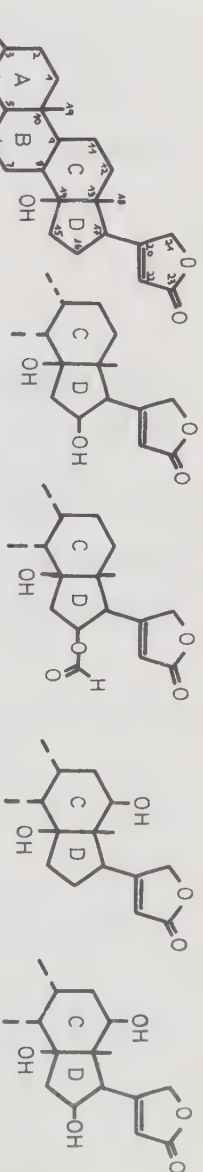
2. Untersuchungen über die quantitativen Veränderungen
der Glykosidzusammensetzung bei Digitalis lanata
Ehrh. im Verlauf der Entwicklung

2.1. Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten in
Digitalis lanata vorkommenden Glykoside

Aus Digitalis lanata sind über 60 Glykoside isoliert und identifiziert worden, die sich von nur fünf verschiedenen Aglyka ableiten. Die meisten Glykoside gehören zur Digitoxygeninreihe, etwas niedriger ist die Anzahl der Gitoxigenin- und Gitaloxigeninderivate. Demgegenüber ist die Zahl der Digoxigeninglykoside - wichtigster Vertreter ist das Lanatosid C - nur gering. Aus der Diginatigeninreihe sind bisher nur vier Glykoside bekannt, die zudem in sehr geringer Konzentration enthalten sind. Die hohe Anzahl der vorkommenden Glykoside ist auf die vielfältigen Variationen der Zuckerkette zurückzuführen. Die Anzahl der Zucker pro Aglykon kann von 1 bis 4 (in den Samen 5) variieren, dabei werden Glykoside mit endständiger Glucose in der Zuckerkette auch als Primärglykoside bezeichnet und den Sekundärglykosiden, denen die endständige Glucose fehlt, gegenübergestellt. Dieser Schritt kann im wäßrigen Auszug leicht durch blatteigene Enzyme vollzogen werden. Eine Abtrennung direkt ans Aglykon gebundener Zucker gelingt mit den blatteigenen Enzymen jedoch nicht.

Außer Glucose, die immer am Ende der Zuckerkette steht (Ausnahme: Gitorin und Glucogitorin), kommen - z.T. seltene - Desoxyzucker vor. Dazu gehören Fucose, Digitalose und Digitorose. Von geringerer Bedeutung sind Glucomethylose und Allomethylose.

Tabelle 1



Zuckerkette

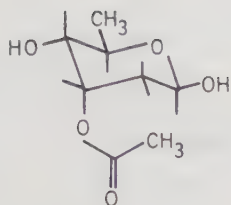
	Digitoxigenin (A-Reihe)	Gitoxigenin (B-Reihe)	Gitalexigenin (E-Reihe)	Digoxigenin (G-Reihe)	Diginnatigenin (D-Reihe)
Gl-Acdx-Dx-Dx-	Lanatosid A	Lanatosid B	Lanatosid E	Lanatosid C	Lanatosid D
Acdx-Dx-Dx-	Acetyl digitoxin	Acetyl gitoxin	Acetyl gitalexin	Acetyl digoxin	Acetyl diginnatin
Dx-Dx-Dx-	Digitoxin	Gitoxin	Gitalexin	Digoxin	Diginnatin
Gl-Dx-Dx-	Glucodigitoxin- geninbisdigitox- osid			Glucodigoxigen- ninbisdigitoxo- sid	
Gl-Dx-	Glucosavatro- monosid	Glucogitorosid	Glucolanadoxin	Glucodigoxigenin- digitoxosid	
Gl-Fuc-	Glucodigifucosid	Glucogitofuco- sid			
Gl-Dtl-	Odorobiosid G	Digitalinum verum	Glucovero - doxin		
Dx-	Evatromonosid	Gitorosid	Lanadoxin		
Fuc-	Digiprosid	Gitoxigenin- fucosid			
Dtl-	Odorosid H	Strospesid	Verodoxin		

Tabelle 1 : Übersicht der wichtigsten in Digitalis lanata vorkommenden Glykoside

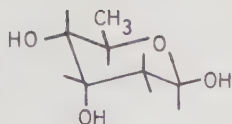
Eine vollständige Zusammenstellung aller bekannten Glykoside aus *Digitalis lanata* wird 1966 von Kaiser ⁶⁾ gegeben. Die in Tabelle 1 erstellte Übersicht zeigt die wichtigsten Primärglykoside und die zugehörigen Sekundärglykoside, die aber mengenmäßig geringere Bedeutung haben. Die wichtigsten Primärglykoside gehören in die Gruppe der Di- und Tetraglykoside. Die Diglykoside lassen sich je nach Desoxyzucker nochmals unterteilen in

- a) Glucodigitoxoside
- b) Glucofucoside
- c) Glucodigitaloside
- d) Glucoglucomethyloside

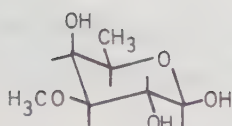
Die Zuckerkette der Tetraglykoside enthält dagegen außer der endständigen Glucose nur Digitoxose und Acetyldigitoxose (= Lanatoside). Wird die Acetyldigitoxose durch Digitoxose ersetzt, erhält man die Purpureaglykoside (= Hauptglykoside in *Digitalis purpurea*), die nur in geringer Menge in *Digitalis lanata* vorkommen.



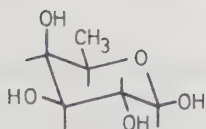
Acetyldigitoxose (AcDx)



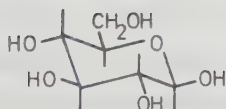
Digitoxose (Dx)



Digitalose (Dt1)

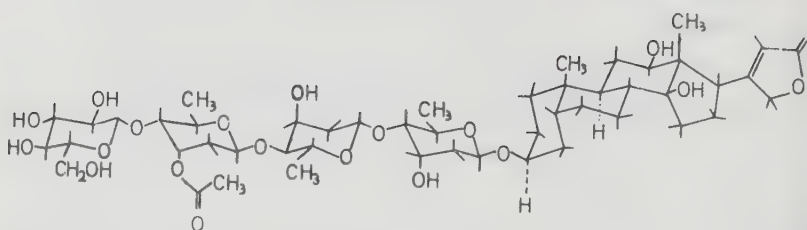


Fucose (Fuc)



Glucose (Gl)

Zur Verdeutlichung der sterischen Anordnung soll die Raumformel von Lanatosid C dienen:



L A N A T O S I D C
(Gl - Acdx - Dx - Dx - C)

2.2. Untersuchungen der quantitativen Glykosidzusammensetzung vom Stadium der Keimpflanze bis zum Ende der ersten Vegetationsperiode

2.2.1. Übersicht über die zu verschiedenen Zeitpunkten vorgenommenen Untersuchungen

In der Tabelle 2 sind alle Untersuchungen, die während der ersten Vegetationsperiode (16., 17. und 18. Ernte = 2. Vegetationsperiode) durchgeführt wurden, zusammengefaßt. Die Ernten sind fortlaufend durchnummeriert (1 - 18). Diese Bezeichnungswiese wird der leichten Lesbarkeit wegen im folgenden Text, in den Tabellen und auch in den Abbildungen beibehalten. Zu jeder Ernte sind die untersuchten Pflanzenteile angegeben.

Die mit ⁺ bezeichneten Ernten werden aus den Betrachtungen über die Veränderungen der Glykosidzusammensetzung im Verlauf der Entwicklung ausgeklammert, da hier spezielle, andere Problemstellungen gegeben waren.

Tabelle 2 : Übersicht über die bei *Digitalis lanata* vorgenommenen Untersuchungen der quantitativen Glykosidzusammensetzung.

Ernte (Datum)	Tage nach der Aussaat	Untersuchte Pflanzenteile
1) 4.u.5.4.74	25 - 26	Keimblätter, Primärblätter, Wurzeln
2) 23.u.24.4.74	44 - 45	Primärblatt a (klein), Primärblatt b (groß), Blatt I
3) 10.-13.5.74	61 - 64	Primärblatt b, Blatt I, II und III
4) 27.-29.5.74	78 - 80	Blatt I, II und III
5) 28.6.74	110	obere und untere Blätter
6) 12.8.74	155	obere, mittlere und untere Blätter
7) 2.9.74	176	obere, mittlere und untere Blätter
8) 2.10.74	206	mittlere Blätter, zerteilte Blätter: a) Blattbasis, -mitte und -spitze b) Mittelnerv, Blattrand
9) 8.11.74	243	obere, mittlere und untere Blätter
10) 4.12.74	269	obere, mittlere und untere Blätter Blattbasis und -spitze d.oberen Blätter
11) 19.12.74	285	Blattrosette, Wurzeln (aus dem Freiland)
12) 22.1.75	319	obere, mittlere und untere Blätter
13) 11.2.75	339	obere, mittlere und untere Blätter
14) 24.2.75	352	obere, mittlere und untere Blätter
15) 12.3.75	368	Blattrosette, Wurzeln (aus dem Freiland)
16) 27.3.75	383	obere, mittlere und untere Blätter
17) 28.7.75		Kelchblätter, Blüten
18) 21.8.75		Blattrosette, Wurzeln (nach der Blüte)

Untersuchungen bei *Digitalis purpurea*:

1) 23.6.74	}	Blätter, Kelchblätter, Blüten
2) 21.7.74		

2.2.2. Untersuchung von Keimpflanzen

Die kontinuierlichen Untersuchungen der heranwachsenden Pflanzen nahmen ihren Anfang bei Keimpflanzen. Hierzu liegt bereits eine Arbeit von Wichtl vor ¹⁴⁾, in der die Glykosidzusammensetzung 10 - 16 Tage nach der Aussaat angegeben wird. Als Hauptglykoside wurden Digitalinum verum, Glucogitorosid, Glucoevatromonosid und Glucogitofucosid beschrieben, Lanatoside sollen - abgesehen von Spuren an Lanatosid A und Desacetyl lanatosid C - fehlen. Nach Untersuchungen von Kaiser ¹⁸⁾ ist der Lanatosid-Gehalt der Samen ebenfalls sehr niedrig, die Hauptglykoside sind hier Glucoevatromonosid, Glucogitorosid, Digitalinum verum und Glucoverodoxin.

Zum Zeitpunkt unserer ersten Ernte - 25 Tage nach der Aussaat - war neben den Keimblättern auch das erste Primärblatt meist schon voll ausgebildet.

Keimblätter: 1 cm lang, bis 0,5 cm breit

Primärblatt: 1,5 - 2 cm lang, 0,5 - 1 cm breit

Es wurden die Keim- und Primärblätter von 1920 Pflanzen abgeschnitten, die ein Frischgewicht von 37,7 g (= Keimblätter) und 30,4 g (= Primärblätter) ergaben. Das Trockengewicht betrug bei den Keimblättern 3 g, bei den Primärblättern 3,2 g. Die Aufarbeitung und quantitative Bestimmung wurde wie im experimentellen Teil beschrieben durchgeführt. Dabei ergaben sich für die quantitative Glykosidzusammensetzung die in Tabelle 3 aufgeführten Werte. Daraus wird deutlich, daß zu diesem Erntezeitpunkt Glucodigifucosid, Glucoverodoxin und Digitalinum verum die Hauptglykoside der Keimblätter darstellen.

belle 3 : Quantitative Glykosidzusammensetzung in Keimblättern und Primärblättern 25 Tage nach der Aussaat

	Relativer Glykosidgehalt mg/100g Trockensubstanz		% Anteil am Glykosidgemisch		Absoluter Glykosidgehalt (µg)	
	Keimblätter	Primärblätter	Keimblätter	Primärblätter	<u>2</u> Keimblätter (=1,56mg)	1 Primärblatt (=1,66mg)
rodoxin	26,8	26,8	13,8	7	0,42	0,44
giprosid	8,7	13,8	4,5	3,6	0,13	0,23
rospesid	28,5	23,6	14,7	6,1	0,44	0,39
ucoevatro- nosid	-	7,7	-	2	-	0,13
orobiosid G	15,5	53,2	8	13,8	0,24	0,88
ucovero- xin	30,4	59,8	15,7	15,5	0,47	1
ucodigi- cosid	44,2	138,3	22,8	35,9	0,69	2,3
gitalinum rum	25,5	52,8	13,2	13,7	0,39	0,87
ucogito- cosid	13,8	9	7	2,3	0,21	0,15
Summe	193,4	385			3,00	6,39
GGG						
Gesamt- glykosid- gehalt)	330	585				

Daneben kommen Glucogitofucosid und Odorobiosid G sowie die Sekundärglykoside Digiprosid, Verodoxin und Strospesid vor, die sich von den drei Hauptglykosiden ableiten (s. Tabelle 1). Glucogitorosid und Glucolanadoxin konnten nur in Spuren nachgewiesen werden. Es ist auffallend, daß hauptsächlich Diglykoside mit Fucose bzw. Digitalose im Zuckeranteil vorkommen, während Digitoxose-enthaltende Diglykoside (Glucogitorosid, Glucolanadoxin) nur in Spuren gefunden wurden. Lanatoside kamen zumindest in nachweisbarer Konzentration nicht vor. Hinsichtlich des Fehlens der Lanatoside stimmen diese Befunde mit den Untersuchungen von Wichtl überein. Das Vorkommen von Glucodigitoxosiden insbesondere Glucoevatromonosid als Hauptglykosid konnte jedoch nicht bestätigt werden.

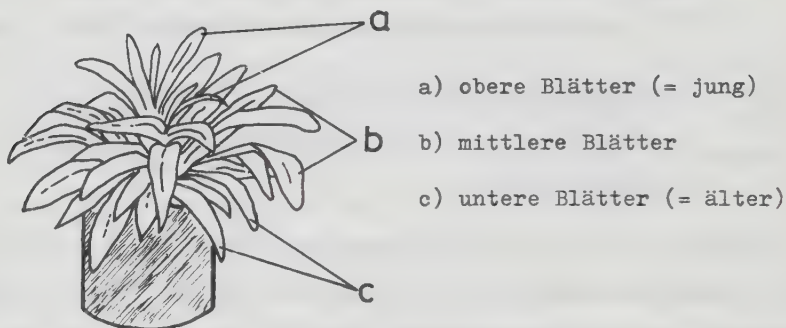
In den Primärblättern hat der Anteil an Digitoxigeninglykosiden gegenüber den Keimblättern stark zugenommen, auch Glucoevatromonosid kommt dort vor, Lanatoside fehlen dagegen weiterhin. Die Wurzeln enthalten geringe Mengen an Digitalinum verum, Glucogitofucosid, Glucoverodoxin, Odorobiosid G und Strospesid, während im Unterschied zu den Keimblättern Glucodigifucosid fehlt. Vergleicht man das Ergebnis der Bestimmung des Gesamtglykosidgehaltes (GGG) (Durchführung s. exper. Teil) mit der Summe (mg) der bei den einzelnen Glykosiden gefundenen Werte, so fällt auf, daß sich daraus nur 58 bzw. 66 % vom GGG ergeben. Auf diesen Befund soll im Zusammenhang mit den weiteren Untersuchungen noch näher eingegangen werden (s. Kapitel 2.2.3.1.).

- 2.2.3. Ergebnisse der Glykosidgehaltsbestimmungen bei den sich weiterentwickelnden Pflanzen unter Berücksichtigung der Glykosidverteilung innerhalb der Rosette
- 2.2.3.1. Anmerkungen zur Entwicklung der Pflanzen sowie zur Veränderung des Gesamtglykosidgehaltes im Verlauf der Entwicklung

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurden je nach Größe der Pflanzen entweder alle Blätter einzeln untersucht (2.-4.Ernte) oder aber aus drei verschiedenen Bereichen der Rosette stichprobenweise Blätter entnommen (s. exper. Teil), die ebenfalls getrennt untersucht wurden. Die jungen Blätter - sie sollen hier als obere Blätter der Rosette bezeichnet werden - sind hellgrün und zart und im Gegensatz zu denen im mittleren Bereich der Rosette (= mittlere Blätter) noch nicht fertig ausgebildet. Die mittleren Blätter sind entsprechend härter und kräftiger entwickelt. Die ältesten Blätter befinden sich im unteren Bereich der Rosette (= untere Blätter). Sie unterscheiden sich nicht wesentlich von den mittleren Blättern, sind aber teilweise noch etwas härter. In diesem Bereich sterben auch regelmäßig Blätter ab. Zur Verdeutlichung ist in Abbildung 2 eine fertig ausgebildete Blattrosette dargestellt.

Bei einer vollständig entwickelten Rosette waren durchschnittlich 90 - 110 Blätter vorhanden. Diese Zahlen wurden der Berechnung des Trockengewichtes einer Blattrosette zugrunde gelegt.

Abbildung 2 : Darstellung einer voll entwickelten Blattrosette



In den Tabellen 4a - d sind das Trockengewicht der untersuchten Blätter und das daraus errechnete Trockengewicht einer Pflanze angegeben. Abbildung 3 zeigt die Veränderungen von Trockengewicht und Glykosidgehalt (berechnet aus den Konzentrationen der Einzelglykoside). Der Quotient aus Gesamtglykosidgehalt durch Trockengewicht einer Pflanze ($\times 1000$) bedeutet bei einem Wert von 0,9 (s. Tabelle 4a, Keimblätter), daß der Glykosidgehalt der Keimblätter im Verhältnis zum Pflanzengewicht sehr niedrig ist. Dieser Wert erreicht mit fortschreitender Entwicklung der Pflanzen bei der 5. Ernte ein erstes und bei der 10. Ernte ein zweites Maximum (14), was bedeutet, daß die relative Zunahme des Glykosidgehaltes größer ist als die Gewichtszunahme der Pflanzen. Gegen Ende der Vegetationsperiode sinkt der Quotient wieder unter 10 ab, d.h. der Glykosidgehalt nimmt ab, das Trockengewicht hingegen kaum.

Fortsetzung S. 22

Abb. 3 : Veränderungen von Gesamtglykosidgehalt (mg bzw. μg /Pflanze) und Trockengewicht (g bzw. mg/Pflanze) pro Pflanze im Verlauf der ersten Vegetationsperiode.

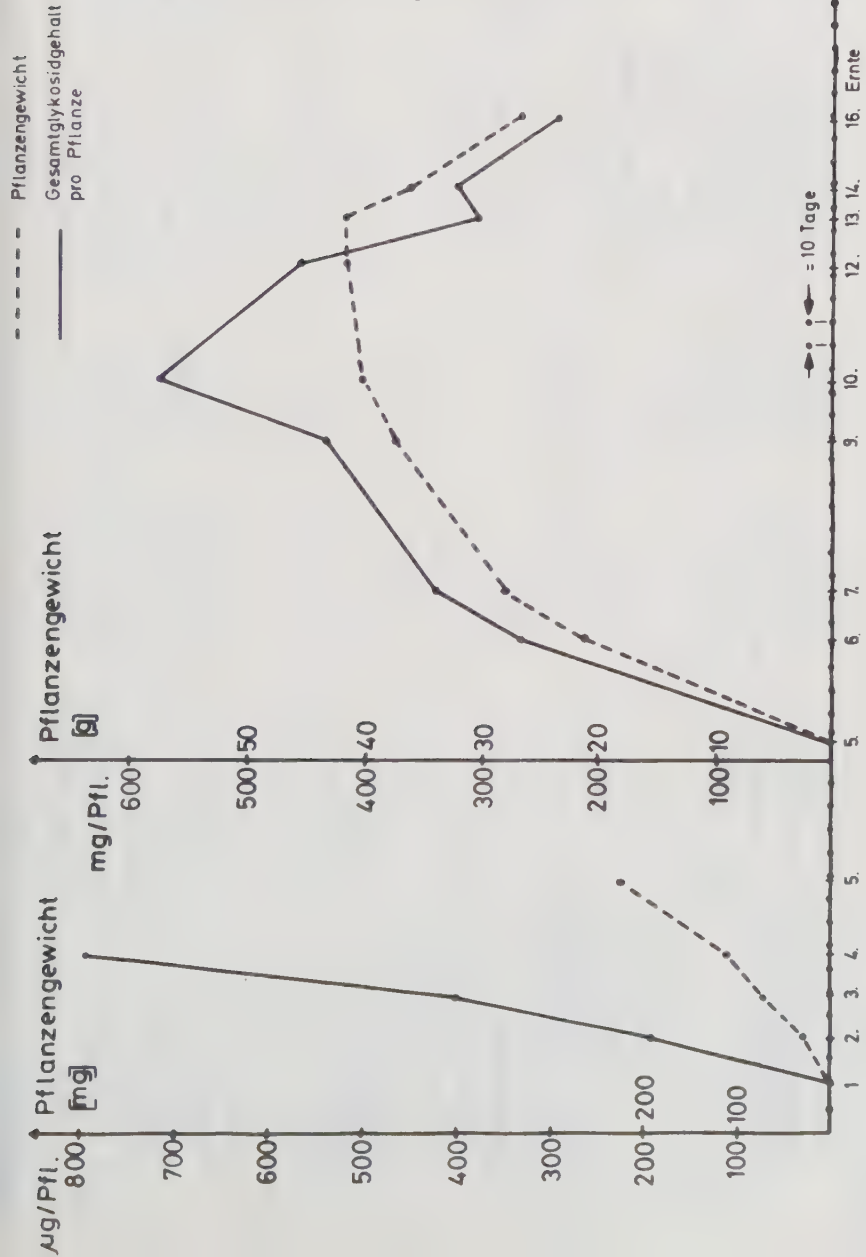


Tabelle 4a :

Ernte (Tage nach der Aussaat)	Trockengewicht einzelner Blät- ter (1.Ernte: Angabe in mg) (g)	Trocknungs- verlust in %, bezogen auf das Frisch- gewicht	Trocken- gewicht einer Pflanze (1.Ernte: Angabe in mg) (g)	Gesamtglykosid- gehalt pro Pflanze (= Summe aller bestimmten Glyko- side) (1.Ernte: Angabe in µg, ab 5.Ernte: Angabe in mg)	Quotient aus Gesamtglyko- sidegehalt durch Trocken- gewicht ei- ner Pflanze (x1000)
1. (26)					
2 Keimblätter	1,56	92		3 µg/2 Keimblätter	0,9
1 Primärblatt	1,66	89,5	3,22	9,4 µg/Pflanze	2,9
2. (45)					18
Primärblatt a	0,0042				1
Primärblatt b	0,0102	85	0,028	195	6,9
Blatt I	0,0136				
3. (64)					
Primärblatt b	0,0168				
Blatt I	0,0292	81	0,0735	406	5,5
Blatt II	0,0224				
Blatt III	0,0051				
4. (80)					
Blatt I	0,0534				
Blatt II	0,0386	76	0,111	796	7,2
Blatt III	0,0195				

Tabelle 4b :

Ernte (Tage nach der Aussaat)	Trockengewicht einzelner Blät- ter (g)	Trocknungs- verlust in %, bezogen auf das Frisch- gewicht	Trocken- gewicht einer Pflanze (g)	Gesamtglyko- sidgehalt pro Pflanze (=Summe aller bestimmten Gly- koside) (mg)	Quotient aus Gesamtglyko- sidgehalt durch Trockengewicht einer Pflanze (x1000)
5. (110)					
1 unteres Blatt (gesamt:4)	0,0212				
1 oberes Blatt (gesamt:5)	0,291	84	0,23	2,96	12,8
6. (155)					
1 unteres Blatt (gesamt:30)	0,143				
1 mittleres Blatt (gesamt:45)	0,344	84	21,6	269,5	12,5
1 oberes Blatt (gesamt:20)	0,089				
7. (176)					
1 unteres Blatt (gesamt:30)	0,282				
1 mittleres Blatt (gesamt:45)	0,39	81	28,3	342,4	12,1
1 oberes Blatt (gesamt:20)	0,116				

Tabelle 4c :

Ernte (Tage nach der Aussaat)	Trockengewicht einzelner Blätter (g)	Trocknungs- verlust in %, bezogen auf das Frisch- gewicht	Trocken- gewicht einer Pflanze (g)	Gesamtglyko- sidgehalt pro Pflanze (=Summe aller bestimmten Glykoside) (mg)	Quotient aus Gesamtglyko- sidgehalt durch Trockengewicht einer Pflanze (x1000)
9. (243)					
1 unteres Blatt (gesamt:30)	0,36				
1 mittleres Blatt (gesamt:45)	0,52	76	37,7	434,6	11,5
1 oberes Blatt (gesamt:20)	0,178				
10. (269)					
1 unteres Blatt (gesamt:30)	0,4				
1 mittleres Blatt (gesamt:45)	0,56	78	40,5	578,3	14,2
1 oberes Blatt (gesamt:20)	0,165				
12. (319)					
1 unteres Blatt (gesamt:30)	0,275				
1 mittleres Blatt (gesamt:60)	0,5	79	42,1	456,7	10,8
1 oberes Blatt (gesamt:20)	0,105				

Ernte (Tage nach der Aussaat)	Trockengewicht einzelner Blätter (g)	Trocknungs- verlust in %, bezogen auf das Frisch- gewicht	Trocken- gewicht einer Pflanze (g)	Gesamtglyko- sidgehalt pro Pflanze (=Summe aller bestimmten Glykoside) (mg)	Quotient aus Gesamtglyko- sidgehalt durch Trockengewicht einer Pflanze (x1000)
13. (339) Anzahl und Gewicht der Blätter gegen- über 13. Ernte un- verändert.	s. 13. Ernte	77	42,1	311,7	7,4
14. (352) mittlere und untere Blätter (gesamt:90) 1 oberes Blatt	0,35 0,25	78	36,4	326,4	8,9
16. (368) 1 unteres Blatt (gesamt:40) 1 mittleres Blatt (gesamt:60) 1 oberes Blatt (gesamt:20)	0,24 0,243 0,14	83	27	239,5	8,8

Die Abnahme des Pflanzengewichtes bei der 14. und 16. Ernte ist durch das Einstellen des Wachstums während des Winters und fortwährendes Absterben alter Blätter zu erklären. Betrachtet man die Zunahme des Trockengewichts und des Glykosidgehaltes während der Wachstumsperiode, so läßt sich zusammenfassend Folgendes sagen:

Das Trockengewicht nimmt von der Keimpflanze bis zur voll ausgebildeten Rosette ungefähr um das 26.000fache zu.

Keimpflanze (= 2 Keimblätter): 1,56 mg

ausgewachsene Pflanze (10. Ernte): 40,5 g

$$\frac{40500 \text{ mg}}{1,56 \text{ mg}} = 25961$$

Demgegenüber steigt der Glykosidgehalt um den fast 200.000fachen Betrag an.

Glykosidgehalt: Keimpflanze (2 Keimblätter): 0,003 mg

ausgewachsene Pflanze (10. Ernte): 578,3 mg

$$\frac{578,3 \text{ mg}}{0,003 \text{ mg}} = 192766$$

Bei jeder Ernte wurde aus dem noch nicht chromatographisch aufgetrennten Glykosidextrakt der Gesamtglykosidgehalt (GGG) photometrisch (Baljet-Reaktion) bestimmt und auf Digitalinum verum berechnet. In Tabelle 4e sind die hierbei erhaltenen Werte (mg/100 g Droge) aufgeführt. Der wiedergefundene %Anteil am GGG, der nach papierchromatographischer Trennung des Glykosidextraktes durch Addition der erhaltenen Glykosidwerte berechnet wurde, ist - wie Tabelle 4e zeigt - in Abhängigkeit vom Erntezeitpunkt sehr verschieden. Dieser Anteil steigt von

Tabelle 4e :

Zusammenstellung der bei den einzelnen Ernten gemessenen Werte des Gesamtglykosidgehaltes (GGG). Die Summe der Werte, die bei der Bestimmung der Einzelglykoside erhalten wurden, diente zur Berechnung des jeweils wiedergefundenen % Anteils am GGG.

Ernte (= E.)	wiedergefundener %Anteil am GGG	GGG (mg/100 g Droge)
1.E. Keimblätter	58	330
Primärblätter	66	585
3.E. Primärblatt b	41	890
Blatt I	56	1160
Blatt II	57	1540
Blatt III	61	1590
4.E. Blatt I	68	1050
Blatt II	70	1210
Blatt III	78	1423
5.E. untere Blätter	66	1305
obere Blätter	69	1995
6.E. untere Blätter	67	1886
mittlere Blätter	65	2170
obere Blätter	63	1986
7.E. untere Blätter	74	1590
mittlere Blätter	73	1780
obere Blätter	58	2350
8.E. mittlere Blätter	75	1620

Fortsetzung Tabelle 4e :

Ernte (= E.)	wiedergefundener %Anteil am GGG	GGG (mg/100 g Droge)
9.E. untere Blätter	85	1610
mittlere Blätter	94	1330
obere Blätter	96	1220
10.E. untere Blätter	92	1467
mittlere Blätter	92	1579
obere Blätter	96	1380
11.E. mittlere Blätter	92	1184
12.E. Rosette	92	1150
13.E. untere Blätter	69	1412
mittlere Blätter	75	1634
obere Blätter	70	1295
14.E. untere Blätter	74	886
mittlere Blätter	90	849
obere Blätter	70	1190
15.E. mittlere und untere Blätter	75	1223
obere Blätter	77	1335
16.E. Rosette	69	1194
17.E. untere Blätter	66	1137
mittlere Blätter	76	1219
obere Blätter	67	1417

der ersten bis zur 11. Ernte (Mitte Dezember) von knapp 60 % auf über 90 % an und sinkt danach bis zur 16. Ernte (Ende März) auf unter 70 % ab. Es wurden zwar nur zehn Glykoside quantitativ bestimmt, der Anteil der übrigen (~50) ist jedoch so gering, daß sich damit eine Differenz von 40 % nicht erklären läßt. Das bedeutet, daß das Ergebnis einer Gesamtgehaltsbestimmung aus dem nicht chromatographisch aufgetrennten Glykosidextrakt nur sehr zweifelhafte Aussagekraft besitzt. Begleitsubstanzen können diesen Wert je nach Entwicklungsstand der Pflanze beträchtlich verfälschen.

2.2.3.2. Veränderungen der Glykosidzusammensetzung während der ersten Vegetationsperiode

Während der gesamten ersten Vegetationsperiode (März 1974-1975) wurden in Abständen von 20 - 40 Tagen Blätter auf die schon beschriebene Art und Weise geerntet. Für jeden Glykosidextrakt wurden nach papierchromatographischer Trennung die wichtigsten Glykoside (etwa 10) photometrisch bestimmt (s. exper. Teil 1.4.5.). Aus Papierchromatogrammen mit etwa 5 Stunden Laufzeit erfolgte die Bestimmung von Lanatosid A und B und gegebenenfalls von Strosposid, während aus Durchlaufchromatogrammen mit 18 Stunden Laufzeit die stärker polaren Diglykoside einschließlich Lanatosid C bestimmt wurden (Abbildung der Chromatogramme s. Teil 3.2.4.2.).

Die Tabellen 5a und b geben Aufschluß über den relativen bzw. absoluten Gehalt pro Pflanze, der bei den einzelnen Ernten

Relativer Glykosidgehalt (mg/100 g Pflanze)

Ernten (Tage nach der Aussaat)

Glykosid	2.(45)	3.(64)	4.(80)	5.(110)	6.(155)	7.(176)	9.(243)	10.(269)	12.(319)	13.(339)	14.(352)	16.(368)
Ianatosid A	30	81	94	195	272	220	126	169	116	69	110	106
Ianatosid B	-	-	-	84	53	51	69	57	61	17	33	31
Ianatosid C	40	46	53	114	237	207	186	218	111	150	194	138
Glevatro.	30	29	24	29	25	36	64	59	43	15	7	41
Glanadox.	20	30	20	65	76	103	106	112	96	64	38	41
Odorob.g	80	66	85	86	83	82	96	122	110	67	117	107
Gligitor.	-	-	-	49	99	113	112	163	157	73	45	83
Gilverodox.	101	40	27	144	135	160	171	256	171	118	125	107
Gldigifuc.	220	225	319	369	209	151	167	191	154	110	152	151
D.verum	200	48	58	96	60	77	77	72	64	56	73	79

Tabelle 5a :

Zusammenstellung der relativen Glykosidwerte,
die zu verschiedenen Erntezeitpunkten im Verlauf
der ersten Vegetationsperiode gemessen wurden.

Absoluter Glykosidgehalt

Ernten (Tage nach der Aussaat)

µg/Pflanze

mg/Pflanze

Glykosid	2.(45)	3.(64)	4.(80)	5.(110)	6.(155)	7.(176)	9.(243)	10.(269)	12.(319)	13.(339)	14.(352)	16.(368)
Lanatosid A	8	59	106	455	59	62	46,6	68,8	49	29	40	28,6
Lanatosid B	-	-	-	197	11,5	14,4	25,6	23,4	25,7	7	12	8,4
Lanatosid C	10	34	60	347	51	61	69	89	47	63,5	71	37,3
Glevatro.	5	12	27	69	5,5	9	24	24,2	18	6,4	2,5	11
Glanadox.	3	22	22	153	16,5	31	39	45,6	40,6	27	14	11,4
Odorob.G	25	48	95	201	18	23	35,5	49,8	46,4	28,4	43	29
Glitor.	-	-	36	116	21	32	41,5	66,5	66	30,7	16,6	22,4
Glverodox.	28	30	30	337	29	45	63	104	72	50	45,4	29
Gldigifuc.	60	166	356	862	45	43	62	78	65	46	55,5	41
D.verum	56	35	64	225	13	22	28,4	29	27	23,7	26,7	21,4
Summe	195	406	796	2962	269,5	342,4	434,6	578,3	456,7	311,7	326,4	239,5

Tabelle 5b :

Zusammenstellung der absoluten Glykosidwerte, die zu verschiedenen Erntezeitpunkten im Verlauf der ersten Vegetationsperiode gemessen wurden.

Abb. 4a bis f : Darstellung der relativen bzw. absoluten Glykosidwerte pro Pflanze in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Ernte.

Abb. 4a Relativer Glykosidgehalt [mg/100 g Droge]

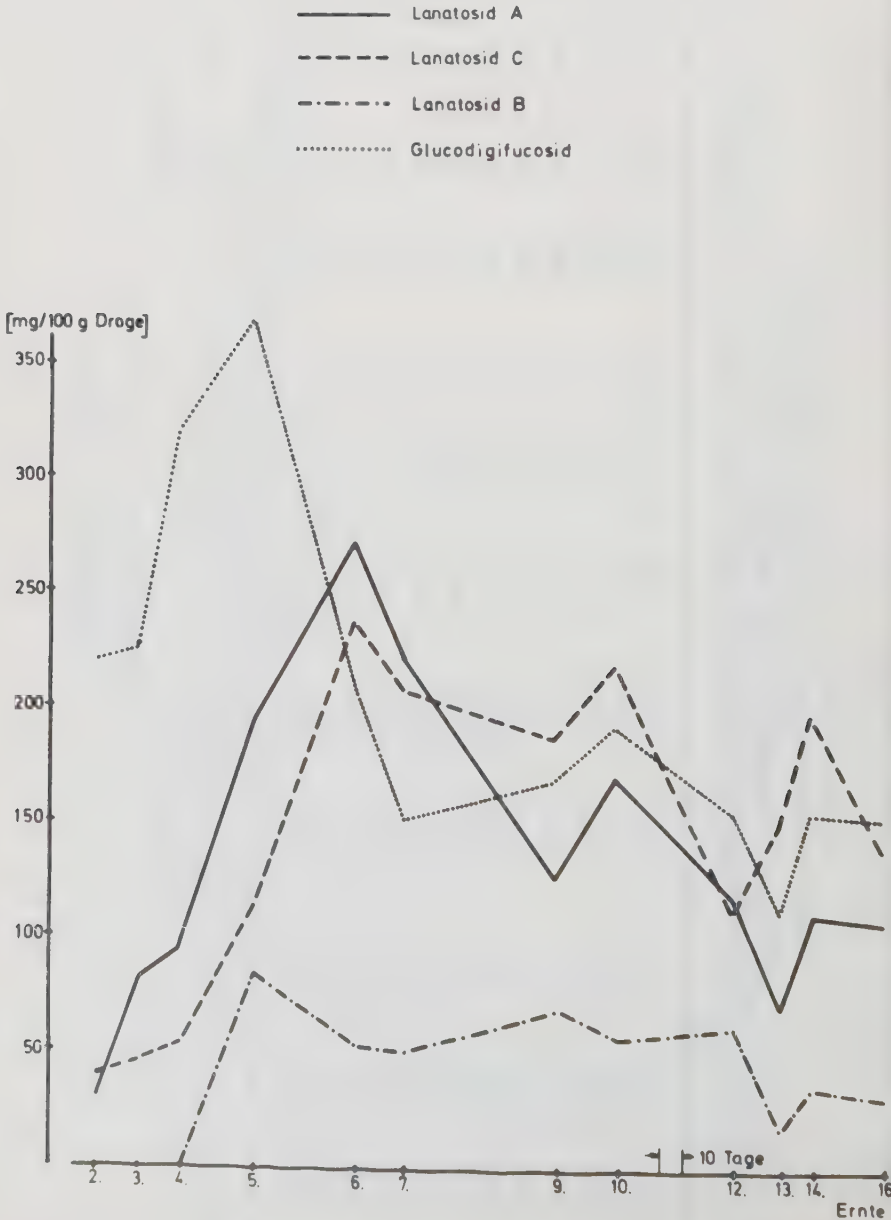


Abb. 4b Relativer Glykosidgehalt [mg/100 g Droge]

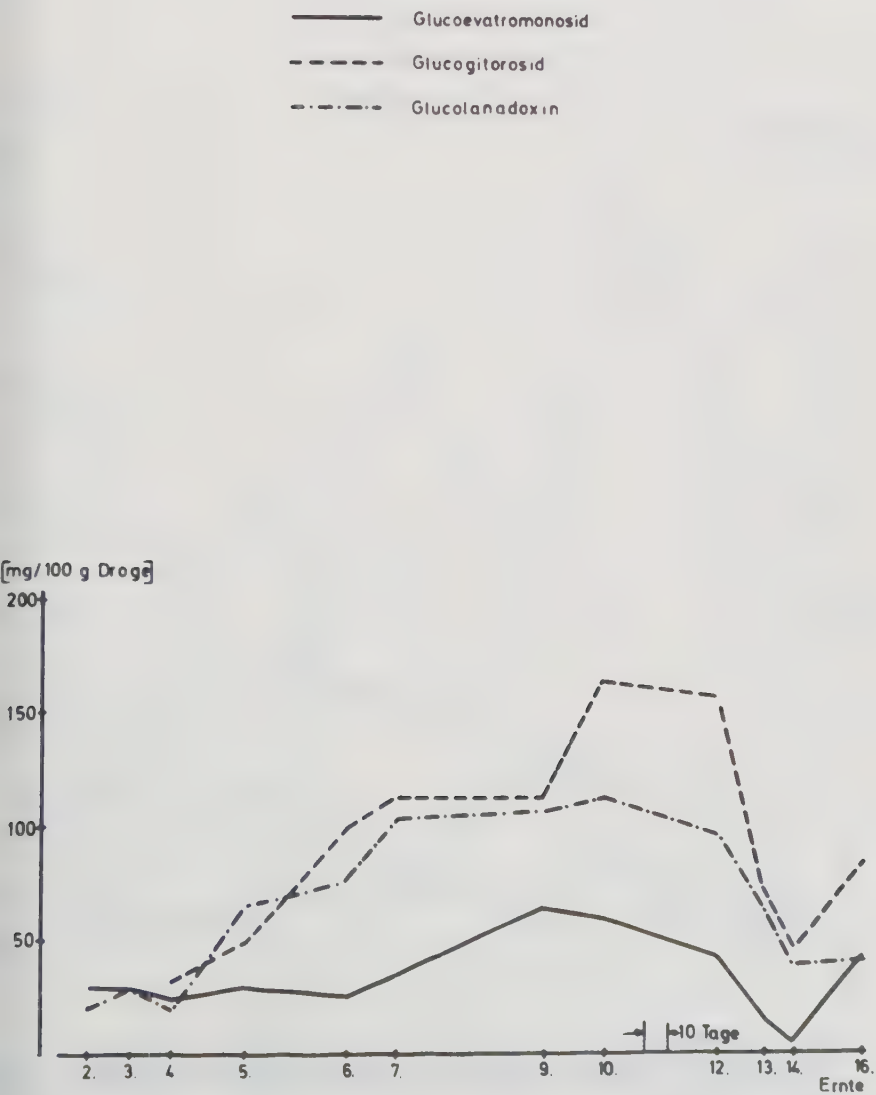


Abb. 4c Relativer Glykosidgehalt [mg/100 g Droge]

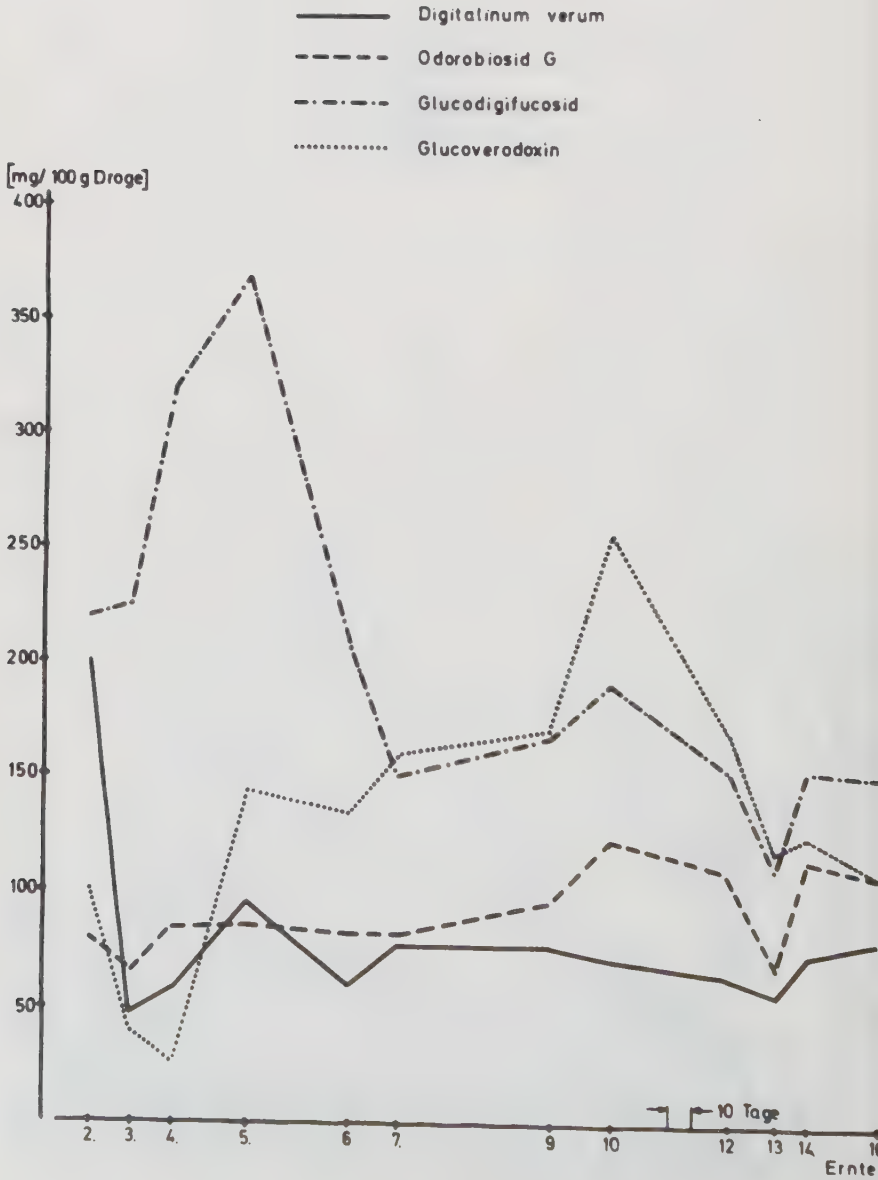


Abb. 4d Absoluter Glykosidgehalt [mg/Pflanze]

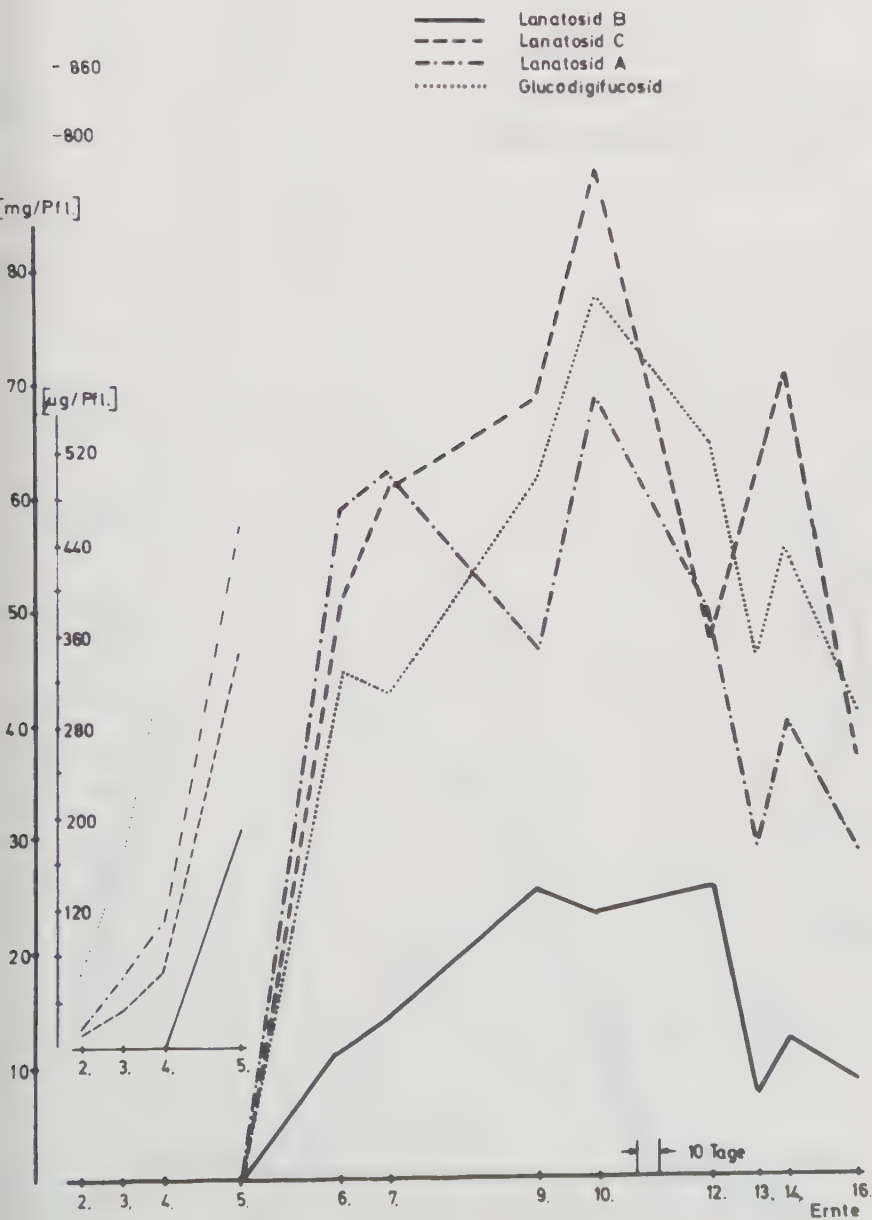


Abb. 4e Absoluter Glykosidgehalt [mg/Pflanze]

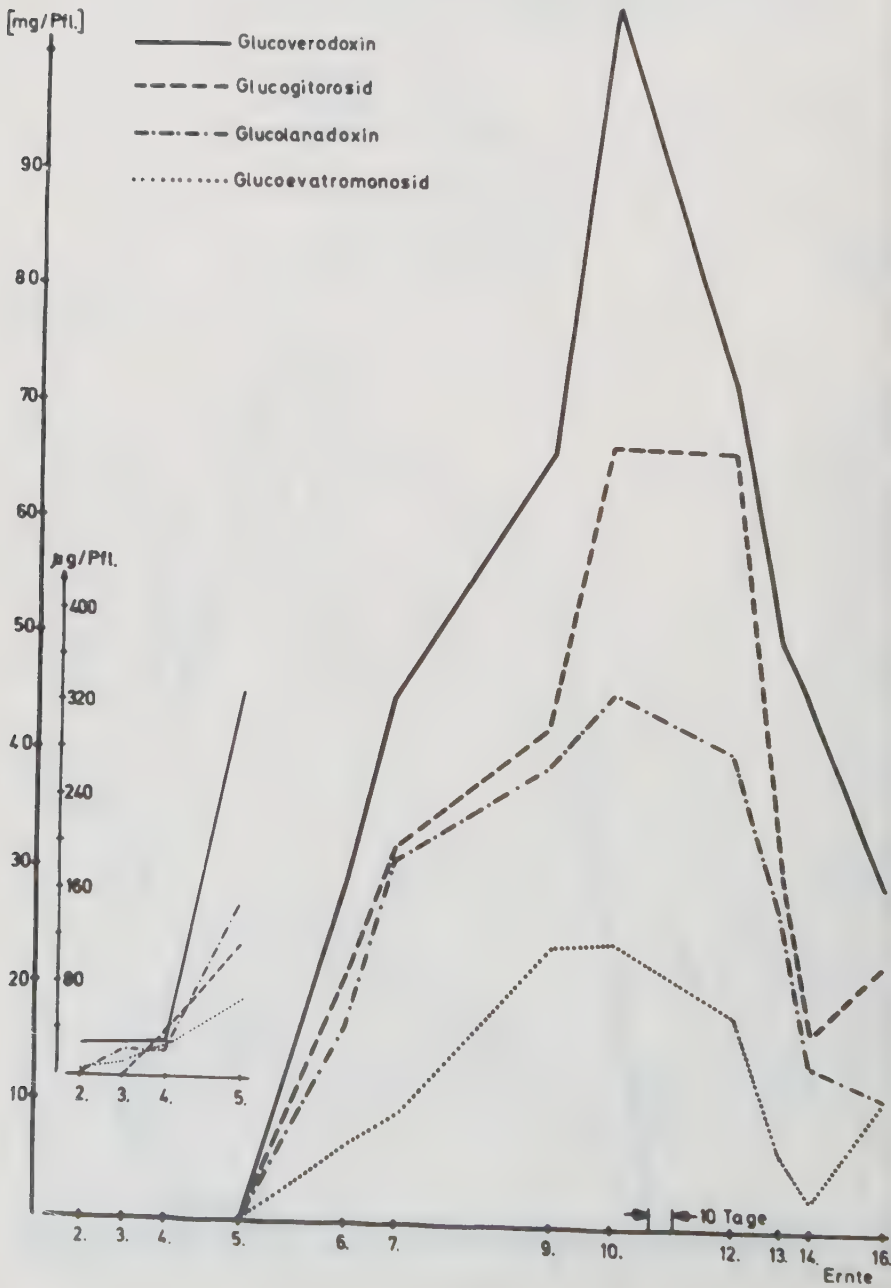
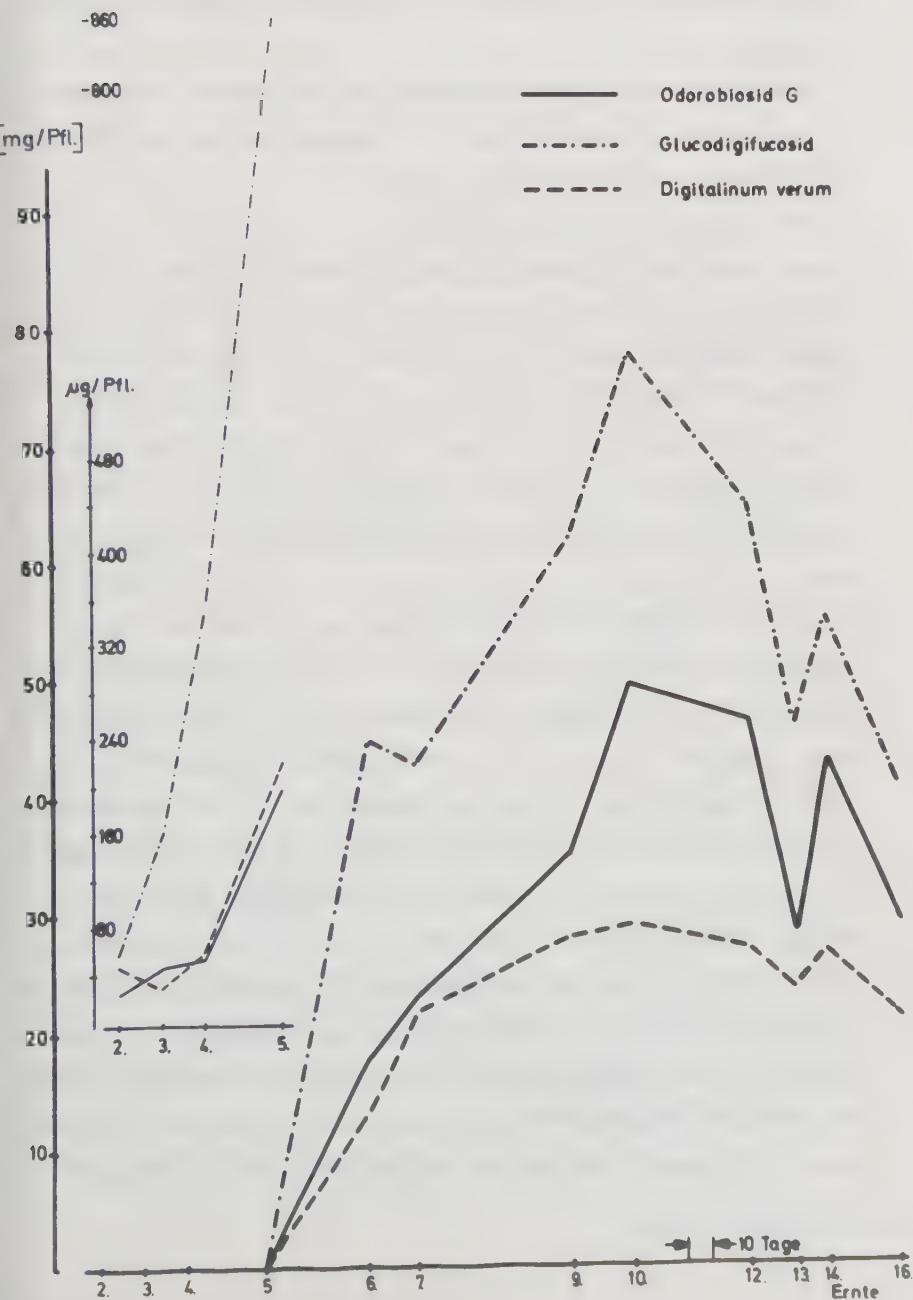


Abb. 4f Absoluter Glykosidgehalt [mg/Pflanze]



für die verschiedenen Glykoside ermittelt wurde. Eine graphische Darstellung dieser Werte ist in den Abbildungen 4a bis f zu finden.

Während in den Keimblättern noch keine Lanatoside nachzuweisen waren, konnten 45 Tage nach der Aussaat geringe Mengen an Lanatosid A und C bestimmt werden.

Von den Hauptglykosiden der Keimblätter behält Glucodigifucosid während der gesamten Vegetationsperiode die Rolle eines Hauptglykosides. Bemerkenswert ist der auffallend konstante relative Gehalt von Odorobiosid G während der ersten zwei Drittel der Vegetationsperiode, was bei keinem anderen Glykosid zu beobachten ist. Der Gehalt an Digitalinum verum und Glucoverodoxin ist dagegen schon 64 Tage nach der Aussaat sehr stark abgefallen. Während aber Digitalinum verum im weiteren Verlauf keine besondere Rolle mehr spielt, steigt der Gehalt von Glucoverodoxin ab dem zweiten Drittel der Vegetationsperiode wieder beträchtlich an. Zu diesem Zeitpunkt ist auch eine starke Zunahme von Lanatosid A und C zu beobachten, wobei Lanatosid A bis zur 7. Ernte (Anfang September) dominiert. Ungefähr nach Ablauf der ersten Hälfte der Vegetationsperiode wird Lanatosid C zum Hauptglykosid, während der Gehalt an Lanatosid A absinkt. Betrachtet man im Vergleich dazu die Veränderungen beim Glucodigifucosid, so ist hier - gleichzeitig mit dem Anstieg der oben genannten Glykoside - ein starker Abfall im Gehalt zu verzeichnen. Dagegen lassen sich solche beträchtliche Verschiebungen bei den übrigen Glykosiden nicht feststellen. Lanatosid B tritt erst relativ spät auf (80 Tage nach der Aussaat) und hat während der gesamten Vegetations-

periode neben Glucoevatromonosid den geringsten Anteil am untersuchten Glykosidgehalt der Pflanzen. Von den Glucodigitoxosiden hat lediglich Glucogitorosid im letzten Drittel der Vegetationsperiode eine gewisse Bedeutung, wogegen in der übrigen Zeit die Entwicklung parallel mit Glucolanadoxin verläuft.

2.2.3.3. Glykosidverteilung innerhalb der Rosette

Die in Kapitel 3.2. hervorgehobenen Gehaltsverschiebungen bei den einzelnen Glykosiden verlaufen, analysiert man Blätter aus verschiedenen Bereichen der Rosette (s. Abschnitt 3.1.), nicht in allen Blättern gleichzeitig, sondern können je nach Alter und damit Entwicklungszustand der Blätter zeitlich verschoben auftreten.

In den Tabellen 6a - d ist der relative Glykosidgehalt der unterschiedlich alten Blätter jeder Ernte angegeben. Die zugehörigen Abbildungen 5a - d zeigen diese Werte in graphischer Darstellung von der 4. Ernte an.

In Abbildung 5a ist der relative Glykosidgehalt von Lanatosid A und C sowie von Glucoevatromonosid in oberen, mittleren und unteren Blättern dargestellt.

Während der Lanatosid C-Gehalt bezogen auf die ganze Pflanze (s. Abbildung 4a - d) erst nach der 7. Ernte den Gehalt an Lanatosid A übersteigt, beginnt diese Entwicklung in den unteren (älteren) Blättern schon bei der 5. Ernte. Der Gehalt an Lanatosid C bleibt hier während der gesamten Vegetationsperiode deutlich über dem Gehalt an Lanatosid A. Erst bei

Abb. 5a : Relativer Glykosidgehalt in oberen (jungen), mittleren und unteren (alten) Blättern der Rosette.

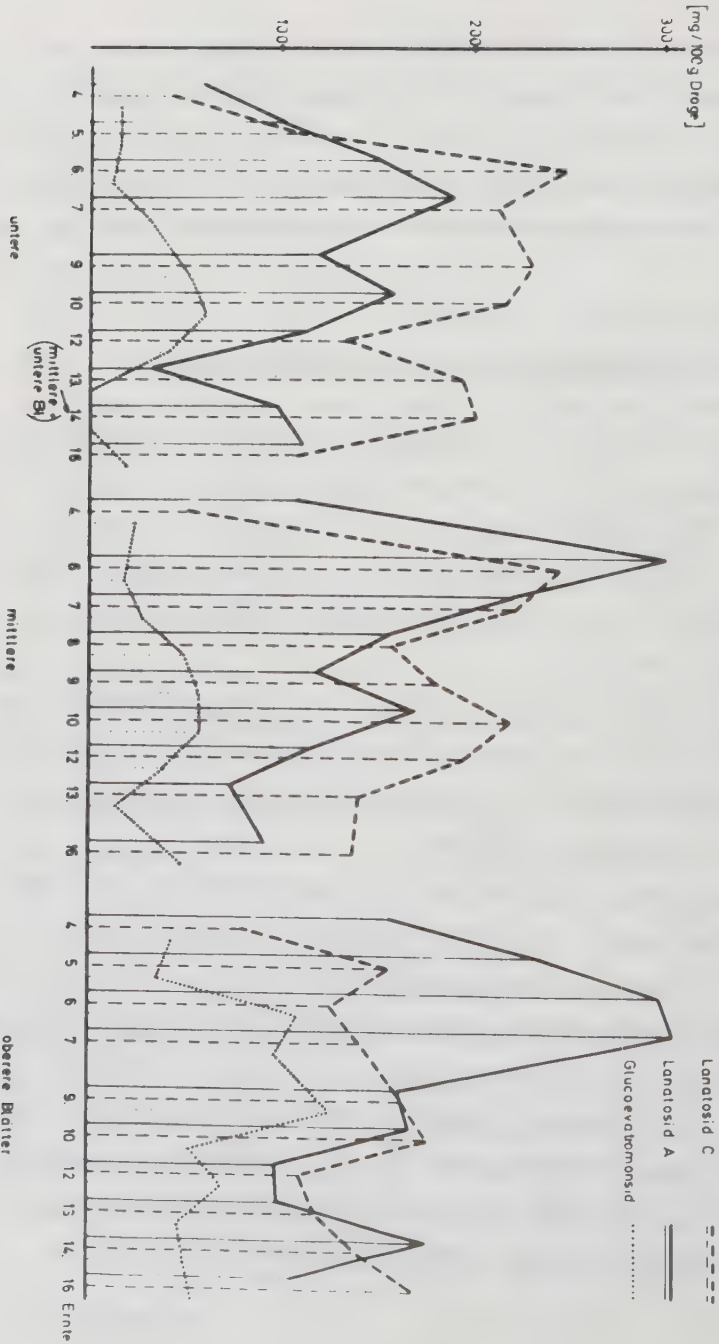


Abb. 5b : Relativer Glykosidgehalt in oberen (jungen), mittleren und unteren (alten) Blättern der Rosette.

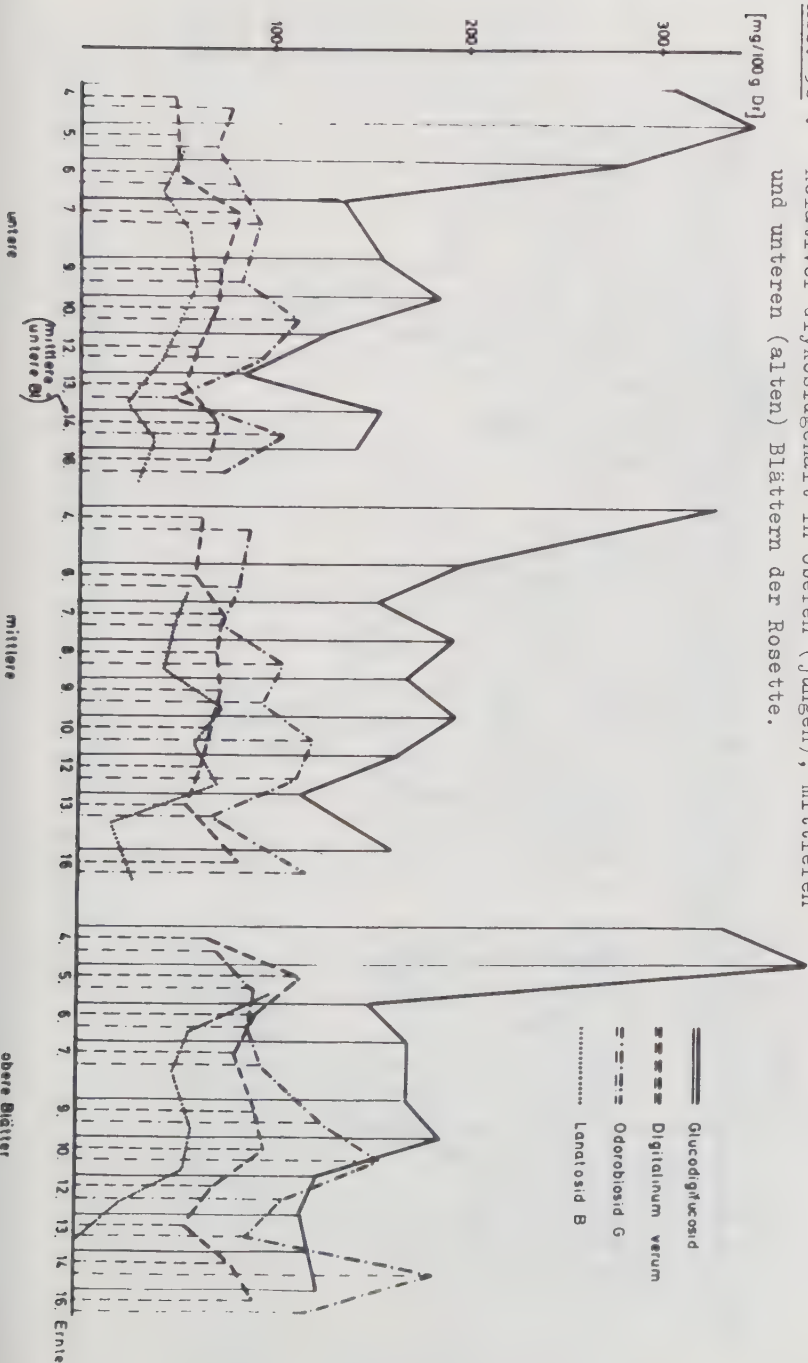


Abb. 5c : Relativer Glykosidgehalt in oberen (jungen), mittleren und unteren (alten) Blättern der Rosette.

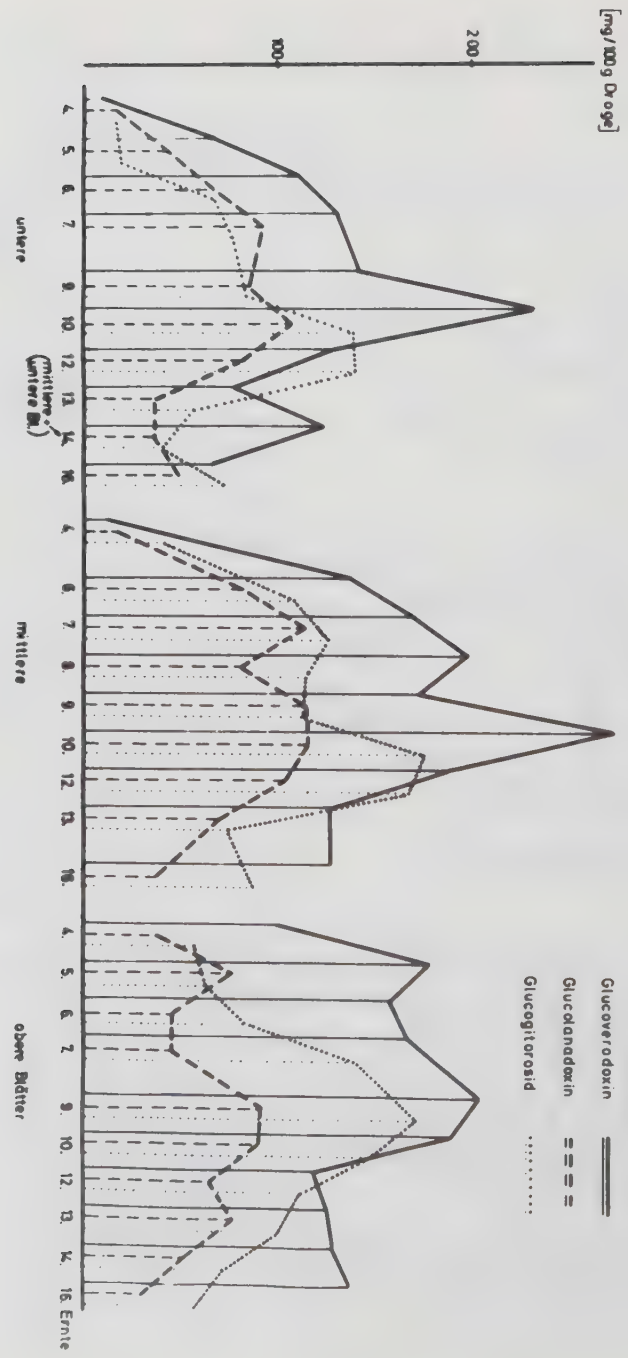


Tabelle 6a :

Relativer Glykosidgehalt in Primärblättern und erstem Folgeblatt (= Blatt I)
(2. Ernte), ab 3. Ernte gilt: Blatt I (= relativ altes Blatt), Blatt II und
Blatt III (= junges Blatt) (mg/100 g Blattsorte)

Glykosid

2. Ernte

3. Ernte

4. Ernte

	Primärbl. a	Primärbl. b	Blatt I	Primärbl. b	Blatt I	Blatt II	Blatt III	Blatt I	Blatt II	Blatt III
Lanatosid A	-	-	27	37,6	64,5	122	134	60	110	160
Lanatosid B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lanatosid C	-	-	40	32,4	40,7	55,6	80	44	52	83
Glevatro.	-	-	28	-	-	39	65	16,5	24	44,5
Gilanadox.	-	-	14	25	33	28	40	16,5	16,5	37
Odorob. G	-	-	120	33	62	87,5	103	79	88,6	96,4
Gligitor.	-	-	-	-	-	-	-	16,4	41	57
Giverodox.	58	78	132	-	-	102	133	11,5	12,4	100
Gldigifuc.	-	-	300	182	231	244	260	306	330	335
D. verum	114	150	264	12,6	25,6	101	58	49,4	64	67,7

Tabelle 6b : Relativer Glykosidgehalt in den unteren (= alten), mittleren und oberen (= jungen) Blättern der Rosette (mg/100 g Blattsorte)

Glykosid	5. Ernte		6. Ernte			7. Ernte			8. Ernte
	obere Blätter	untere Blätter	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter	mittlere Blätter
Lanatosid A	237	104	298	303	152	306	222	192	158
Lanatosid B	100	51	58	55	43,5	50	48	56	44
Lanatosid C	159,4	111,4	128	247	250	143	224	215	158
Glevatro.	36	16	110,5	19	12	99,4	29	32	50,4
Gllanadox.	76	43,4	46	83	67	45,4	115	93	81,4
Odorob. G	92,6	72	89	82,6	81	95,5	74,6	93,5	106
Glgitor.	63,4	19,4	84	109	68	142	127	78	115
Gilverodox.	179	69,5	157	139	114	168	171	134	200
Gldigifuc.	378	349	150	196	280	172	155	136	193
D.verum	117	51	93	60	49	84	74	82	72

Tabelle 6c : Relativer Glykosidgehalt in den unteren (= alten), mittleren und oberen (= jungen) Blättern der Rosette (mg/100 g Blattsorte)

Glykosid	9. Ernte			10. Ernte			12. Ernte		
	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter
Lanatosid A	163	120	120	169,5	172	161	100	119	115
Lanatosid B	60,4	74	59	57	60,6	51	23	71,4	41
Lanatosid C	166	163	233	178	222	219,6	112	196	137
Glevatro.	127,4	58	54	54	58,5	62	71	39	42,4
Gilanadox.	93	115	86	90	116	108	65,6	104,4	81,4
Odorob. G	118	95,6	85	158	121	113,5	110	114	94
Glglitor.	172	113	84,6	148	176	140	111	168	140
Gilverodox.	206	174	144	189	273	236	118	188	130
Gldigifuc.	171	169	155	190	194	185	126	165	126
D.verum	94,5	74	73	98	68	71,5	72	64	61,5

Tabelle 6d : Relativer Glykosidgehalt in den unteren (= alten), mittleren und oberen (= jungen) Blättern der Rosette (mg/100 g Blattsorte)

Glykosid	13. Ernte			14. Ernte		16. Ernte = Beginn der 2. Vegetationsperiode		
	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter	obere Blätter	mittlere + untere Blätter	obere Blätter	mittlere Blätter	untere Blätter
Lanatosid A	102	75	34	178	100	107	93	113
Lanatosid B	-	17	25	-	38,5	30	29	31,4
Lanatosid C	119,6	142	196,6	141,4	203	170,6	139	109
Glevatro.	48	15	-	51	-	54,5	49	19,5
Glanadox.	76,4	70	36,6	51	37	29,6	37,5	50
Odorob. G	91	69	50	188	106	119,6	119	73
Glitor.	101	74	56,6	72	41,6	57,5	89,6	74
Glycerodox.	126	128,5	78	128	125	137	128	68
Gldigifuc.	118	115,6	85	122	157	127	162	142
D.verum	58	56,5	55	82	72	93	84	67,6

der 16. Ernte - mit Beginn der zweiten Vegetationsperiode - fällt Lanatosid C soweit ab, daß der Gehalt mit dem an Lanatosid A etwa übereinstimmt.

Betrachtet man dagegen die Verhältnisse in den oberen (jungen) Blättern, so ist der Gehalt an Lanatosid A bis zur 7. Ernte außerordentlich hoch, sinkt danach jedoch ab und wird von der 9. Ernte an geringfügig von Lanatosid C übertroffen. Die Entwicklung in den mittleren Blättern läßt sich zwischen diesen beiden Extremen einordnen. Lanatosid C übersteigt den A-Gehalt von der 7. Ernte an. Insgesamt gesehen ähneln sich die Verhältnisse in den mittleren und unteren Blättern auch hinsichtlich des Gehaltes an Glucoevatromonosid. Dies ist auf Grund der fortgeschrittenen Entwicklung gegenüber den jungen (oberen) Blättern durchaus verständlich. In den jungen Blättern ist demgegenüber der Gehalt an Glucoevatromonosid verhältnismäßig hoch.

In Abbildung 4b sind die entsprechenden Verhältnisse für Glucodigifucosid, Odorobiosid G, Digitalinum verum und Lanatosid B dargestellt. Man findet hier eine weitgehende Übereinstimmung bei unteren und mittleren Blättern. In den oberen Blättern sind in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode zwei deutliche Maxima bei Odorobiosid G zu erkennen, während Lanatosid B abnimmt und bei der 13. und 14. Ernte nicht mehr nachweisbar ist.

Die Verhältnisse bei Glucolanadoxin und Glucogitorosid (s. Abbildung 5c) lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

Während in den jungen Blättern der Gehalt an Glucolanadoxin relativ niedrig ist und deutlich von Glucogitorosid übertroffen wird, liegt der Glucolanadoxingehalt in den älteren (unteren) Blättern bis zur 9. Ernte geringfügig über dem Gehalt an Glucogitorosid. Die Glykosidwerte der mittleren Blätter liegen wiederum (s. Abbildung 5a) zwischen den beiden Extremen. Für Glucoverodoxin lassen sich bemerkenswerte Unterschiede in den einzelnen Blättern nicht erkennen. Zudem ist eine Interpretation bei Glucoverodoxin dadurch erschwert, daß wegen Überlagerung im Chromatogramm immer ein unbekannter Anteil an Glucodigitoxigeninglucomethylosid mit bestimmt wird.

2.2.3.4. Glykosidverteilung innerhalb des Blattes

Eine unterschiedliche Glykosidverteilung innerhalb des Blattes könnte für die Ernte von *Digitalis lanata*-Pflanzen von praktischer Bedeutung sein, wenn nämlich im Bereich der Blattbasis der Glykosidgehalt relativ hoch wäre. In dem Falle wäre es sinnvoll zur Vermeidung von Verlusten die Blätter möglichst dicht über dem Erdboden abzuschneiden. Um diese Frage zu beantworten, wurden Blätter aus dem mittleren Bereich der Rosette (8. Ernte) sofort nach dem Abtrennen von der Pflanze quer bzw. längs zerschnitten (s. Abbildung 6a und b).

Die relativen und absoluten Glykosidwerte in den verschiedenen Blatteilen und im ungeteilten Blatt sind in den Tabellen 7a und b aufgeführt. Die Summe aus den gefundenen Werten

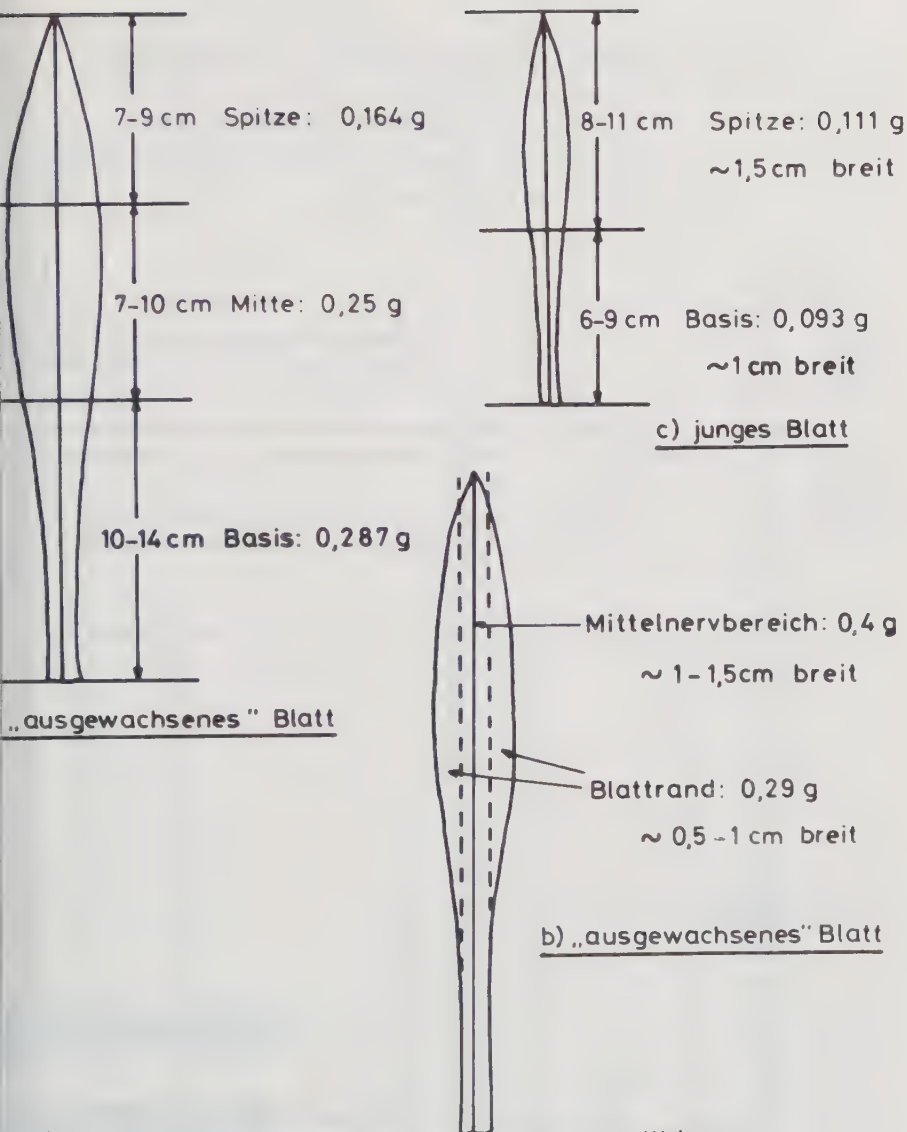


Abb. 6

Darstellung der in verschiedener Weise zerschnittenen Blätter im Maßstab 1 : 2

Abb. 7a und b : Darstellung des absoluten Glykosidgehaltes (= Summe der gemessenen Glykosidwerte) im Vergleich zum Gewicht von Blattspitze, -mitte und -basis und Darstellung des relativen Glykosidgehaltes.

Abb. 7b
Relativer Glykosidgehalt in
Blattspitze, -mitte und -basis

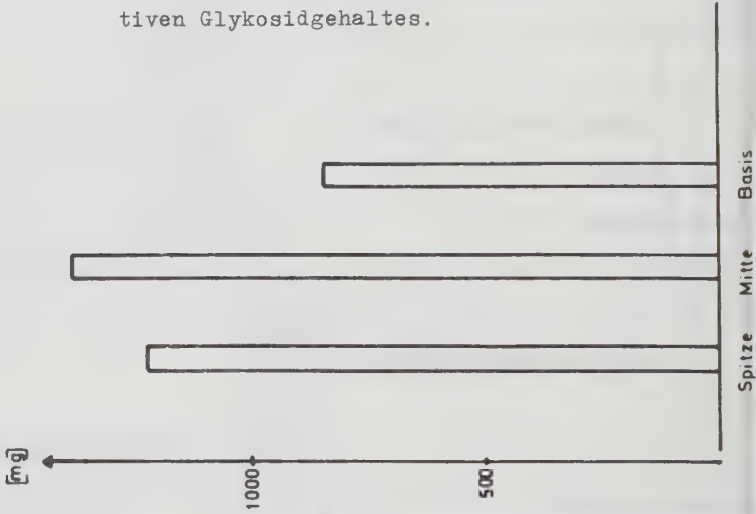


Abb. 7a
Absoluter Glykosidgehalt [mg] in
Blattspitze, -mitte und -basis

Gewicht der verschiedenen
Blatteile [mg/10g]

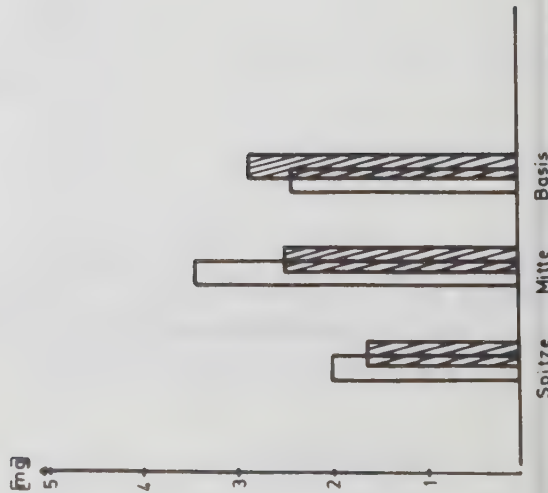


Abb. 7c Relativer Glykosidgehalt in Blattspitze¹, -mitte² und -basis³
(dargestellt für jedes Glykosid von links nach rechts)

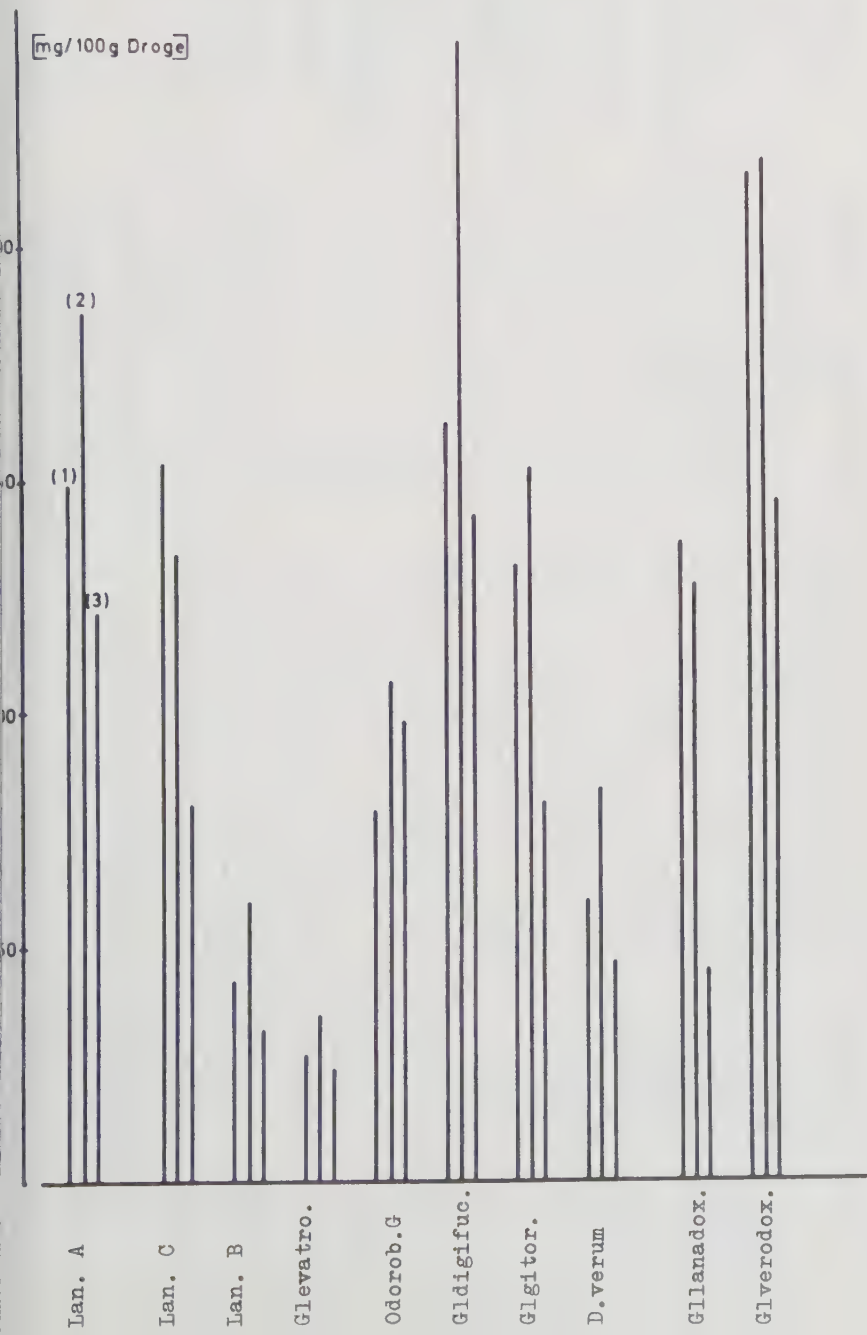


Tabelle 7a : Relativer Glykosidgehalt in verschiedenen Blatteilen und im unzerteilten Blatt
(mg/100 g Droge) GGg = Gesamtglykosidgehalt

	Blattspitze	Blattmitte	Blattbasis	ganzes Blatt	Blattrand	Bereich des Mittelnerven
Lanatosid A	149,5	186,5	122	158	208,5	167
Lanatosid E	39,5	32,5	-	31	68	64
Lanatosid B	43	60	32,5	44	43,5	55,5
Glucodigitoxi- geninbisdigi- tozoxid	21	-	25	-	-	-
Lanatosid C	154	134,5	80,5	158	201	160
Glevatro.	27	35,5	24	50,5	49	59
Glanadox.	137	128	45	81,5	116	89
Odorob. G	79,5	107	98,5	106,5	67	70,5
Glgitor.	132	153	81	115	111,5	106
Gilverodox. (+5a)	217	220	146	200	183,5	189
Gldigifuc.	163	245	143	193	127	132,5
D. verum	60	84	46,5	72	59,5	61,5
Summe	1225,5	1386	844	1179,5	1234,5	1154
GGg	1750	1730	1250	1620	1510	1240

Tabelle 7b : Absoluter Glykosidgehalt in verschiedenen Blatteilen und im unzerteilten Blatt (mg)
GGG = Gesamtglykosidgehalt

	Blattspitze (=0,164g)	Blattmitte (=0,25g)	Blattbasis (=0,287g)	ganzes Blatt (=0,7g)	Blattrand (=0,29g)	Bereich des Mittelnerven (=0,4g)
Lanatosid A	0,245	0,466	0,35	1,106	0,604	0,667
Lanatosid E	0,065	0,081	-	0,218	0,197	0,256
Lanatosid B	0,070	0,149	0,093	0,309	0,126	0,223
Glucodigitoxi- geninblsidi- gl- toxosid	0,034	-	0,071	-	-	-
Lanatosid C	0,252	0,336	0,231	1,106	0,583	0,64
Glevatro.	0,044	0,089	0,069	0,353	0,143	0,235
Glanadox.	0,224	0,322	0,129	0,57	0,335	0,356
Odorob. G	0,13	0,267	0,283	0,744	0,193	0,283
Glglitor.	0,216	0,382	0,232	0,805	0,323	0,424
Glycerodox. (+ 5a)	0,356	0,55	0,42	1,4	0,532	0,755
Glidi- glfuc.	0,267	0,612	0,41	1,351	0,369	0,53
D.verum	0,098	0,211	0,133	0,504	0,172	0,247
Summe	2,001	3,465	2,421	8,466	3,577	4,616
GGG	2,87	4,325	3,587	11,34	4,379	4,96

Tabelle 7c : % Anteile der Einzelglykoside an der Glykosidsumme im unzerteilten Blatt und in den verschiedenen Blatteilen.

	Blattspitze	Blattmitte	Blattbasis	ganzes Blatt	Blattrand	Bereich des Mit- telnerven
Lanatosid A	12,2	13,4	14,4	13,4	16,9	14,5
Lanatosid E	3,2	2,3	-	2,6	5,5	5,5
Lanatosid B	3,5	4,3	3,8	3,7	3,5	4,8
Glucodigitoxigenin- bisdigitoxosid	1,7	-	3	-	-	-
Lanatosid C	12,5	9,7	9,5	13,4	16,3	13,9
Glevatro.	2,2	2,5	2,8	4,3	4	5,1
Gllanadox.	11,2	9,2	5,3	6,9	9,4	7,7
Odorob. G	6,5	7,7	11,7	9	5,4	6,1
Glgitro.	10,8	11	9,6	9,7	9	9,2
Gilverodox.(+5a)	17,7	15,9	17,3	17	14,9	16,4
Glddigifuc.	13,3	17,7	16,9	16,4	10,3	11,5
D.verum	4,9	6,1	5,5	6,1	4,8	5,3

in Blattspitze (1225 mg/100 g Droge) und Blattmitte (1386 mg) liegen deutlich höher als die Summe der Glykosidwerte in der Blattbasis (844 mg) (s. Abbildung 7b). In Abbildung 7a sind der absolute Glykosidgehalt und das Gewicht der Blatteile in Relation zueinander dargestellt. Dabei erkennt man, daß trotz des relativ hohen Gewichtes der Blattbasis der Glykosidgehalt gegenüber der Blattspitze und -mitte niedrig bleibt.

Eine vergleichbare Differenz zwischen den relativen Werten der Randzone (1234 mg) und dem Bereich des Mittelnerven (1154 mg) ist nicht festzustellen. Vergleicht man die relativen Werte der Einzelglykoside im Blattrand und im Bereich des Mittelnerven, so ist eine weitgehende Übereinstimmung zu erkennen. Ausnahmen bilden die Werte von Lanatosid A, C und Glucolanadoxin, die im Blattrand um 25 bzw. 30 % erhöht sind. Beim Vergleich der relativen Glykosidwerte in Blattspitze, -mitte und -basis sind bei allen Glykosiden die Werte in der Blattbasis am niedrigsten. Besonders deutlich wird dies bei Glucolanadoxin, Glucogitorosid und Lanatosid C (s. Abb. 7c). Betrachtet man die % Anteile von Lanatosid A und C an der Glykosidsumme, so fällt auf, daß von der Blattbasis über die Mitte zur Blattspitze eine Angleichung zwischen den Lanatosid A- und C-Anteilen erfolgt:

	Lanatosid A	Lanatosid C	
Blattbasis :	14,4	9,5	%
Blattmitte :	13,4	9,7	%
Blattspitze :	12,2	12,5	%

Bei basiplastem Wachstum des Blattes stellt die Blattbasis den jüngsten Teil die Blattspitze dagegen den ältesten Teil des Blattes dar. Möglicherweise läßt sich hier eine Parallele zu einer schon früher gemachten Beobachtung (s. Abschnitt 3.3.) ziehen: höherer Lanatosid A-Gehalt in jungen, in älteren Blättern dagegen höherer Gehalt an Lanatosid C.

Die Abhängigkeit der Glykosidverteilung vom Alter der jeweiligen Blattzone wurde in einem weiteren Experiment an zer- teilten jungen Blättern (s. Abbildung 6c) untersucht (10. Ernte). Die Differenz zwischen Glykosidgehalt von Blattbasis und Blatt- spitze sollte hier entsprechend gering sein. Aus der Tabelle 8a ist der relative und absolute Glykosidgehalt der jungen zer- teilten und unzerteilten Blätter zu entnehmen.

Auffallend ist - wie vermutet - die geringe Differenz zwi- schen den Summen der relativen Glykosidwerte in Basis (1185 mg) und Spitze (1237 mg). Die Werte der meisten Glykoside zeigen in Blattbasis und -spitze keine bedeutenden Unterschiede. Allerdings ist - wie auch bei den "ausgewachsenen" Blättern schon festgestellt wurde - der Gehalt von Glucolanadoxin, Gluco- gitorosid und Lanatosid C in der Blattspitze deutlich erhöht. Auch in den jungen Blättern liegt der Lanatosid A-Gehalt (12,5 %) noch über dem Lanatosid C-Gehalt (10,7 %) - die Differenz ist aber geringer als in ausgewachsenen Blättern - während in der Blattspitze ein Ausgleich erfolgt ist: Lana- tosid A = 13,4 %, Lanatosid C 13,5 % (s. Tabelle 8b).

Tabelle 8a :

Relativer und absoluter Glykosidgehalt in Blattspitze und -basis
 junger (= oberer) Blätter und im ungeteilten jungen Blatt.

	mg/100 g Droge			mg/Blatt bzw. Blattteil		
	Blattspitze	Blattbasis	ganzes (junges) Blatt	Blattspitze (=0,111g)	Blattbasis (=0,093g)	ganzes (junges) Blatt
Lanatosid A	165,5	149	169,5	0,184	0,138	0,345
Lanatosid B	41	51	57	0,045	0,047	0,116
Lanatosid C	167	127	178	0,185	0,118	0,363
Glevatro.	68	87	54,5	0,075	0,081	0,111
Glanadox.	106	73,5	90	0,117	0,068	0,183
Odorob. G	126	146	158	0,140	0,136	0,322
Glgitor.	150	114	148	0,166	0,106	0,302
Gilverodox.	179	186	189,5	0,198	0,173	0,386
Gldigifuc.	158	176	190	0,175	0,163	0,387
D.verum	76,5	76	98	0,085	0,070	0,20
Summe	1237	1185,5	1332,5	1,37	1,1	2,715
GGG	1341	1220	1380	1,488	1,134	2,815

Tabelle 8b : % Anteile der Einzelglykoside an der Glykosidsomme in Blattspitze und
-basis junger Blätter und im ungeteilten jungen Blatt.

	Blattspitze	Blattbasis	ganzes (junges) Blatt
Lenatosisid A	13,4	12,5	12,7
Lenatosisid B	3,3	4,3	4,3
Lenatosisid C	13,5	10,7	13,3
Glevatro.	5,5	7,3	4,1
Gilanadox.	8,5	6,2	6,7
Odorob. G	10,2	12,3	11,8
Gligitor.	12,1	9,6	11,1
Gilverodox.	14,5	15,7	14,2
Glidigifuc.	12,8	14,8	14,2
D.verum	6,2	6,4	7,3

Diesen Ergebnissen zufolge dürfte der höchste Gesamtglykosidgehalt innerhalb eines voll entwickelten Blattes in der oberen Blatthälfte zu finden sein. Der höchste Gehalt an Lanatosid C kommt hier möglicherweise in der Blattrandregion vor. Untersuchungen von Zenk und Weiler¹⁹⁾ mittels Radioimmunassay ergaben, daß die Hauptmenge an Digoxigeninglykosiden im nervenfreien Blattgewebe enthalten ist, was hinsichtlich des Lanatosid C-Gehaltes auf eine Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen hindeutet.

2.2.4. Untersuchung von Pflanzen, die winterlichen Temperaturen ausgesetzt waren

Mitte November wurden einige Pflanzen aus dem Gewächshaus (15°C) ins Freie gebracht (Außentemperatur am Tage etwa 10°C). Davon wurde im Laufe des Winters Blätter bzw. ganze Blattssetten untersucht und der Glykosidgehalt mit dem von Gewächshauspflanzen verglichen.

Während die im Dezember geernteten Pflanzen recht mildes Wetter - unterbrochen von einer nur kurzen Frostperiode - hatten, war die im März geerntete Pflanze einer mehrwöchigen Frostperiode ausgesetzt. Alle Freilandpflanzen zeigten, abgesehen von einer starken Anthocyanbildung auf der Blattoberseite, keine wesentlichen Veränderungen gegenüber den Gewächshauspflanzen.

Auf die gleichzeitig vorgenommene Analyse der Wurzeln wird später in Abschnitt 3.3. eingegangen.

Die Untersuchungen sollten zeigen, ob die Überwinterung im Freien zu einer allgemeinen Abnahme des Glykosidgehaltes führt oder ob hiervon nur bestimmte Glykoside betroffen sind. In den Tabellen 9a und b sind der relative Glykosidgehalt und die % Anteile an der Glykosidsumme bei den verschiedenen Ernten aufgeführt.

Bei der 10. Ernte (4. Dezember) liegt der Glykosidgehalt der Freilandpflanzen (1053 mg / 100 g Droge) deutlich niedriger als der der Gewächshauspflanzen (1461 mg). Betrachtet man die relativen Werte der einzelnen Glykoside, so ist zu erkennen, daß diese Differenz hauptsächlich durch die relativ starke Abnahme des Gehaltes an Lanatosid C (von 222 auf 97 mg / 100 g) Glucoverodoxin (von 273 auf 142 mg) und Glucogitorosid (von 176 auf 95 mg) zustande kommt. Die Abnahme des relativen Gehaltes an Lanatosid A von 172 mg auf 135 mg/100 g Droge drückt sich im % Anteil am Gesamtgehalt (s. Tabelle 9b) als geringfügige Erhöhung aus. Glucodigifucosid ist das Hauptglykosid der Freilandpflanzen, was auch für die beiden weiteren Ernten gilt. Bei der folgenden Ernte (19. Dezember) ist der Gesamtgehalt praktisch gleich geblieben. Unter den Einzelglykosiden sind jedoch beträchtliche Verschiebungen bei einigen Digitoxigeninglykosiden zu verzeichnen. So haben Glucodigitoxigenin-glucomethylosid, Glucodigitoxigeninbisdigitoxosid und Glucoevatromonosid stark zugenommen, während der Gehalt an Odorobiosid G abnahm und Glucoverodoxin kaum noch nachzuweisen ist. Bei der 15. Ernte (12. März) ist von diesen auffallenden Veränderungen nichts mehr zu bemerken. Der Gesamtgehalt hat weiter

Tabelle 9a : Relativer Glykosidgehalt von Pflanzen, die im Freiland überwintern,
im Vergleich zu Gewächshauspflanzen
(G) = Gewächshaus, (F) = Freiland (mg/100 g Droge)

	10. Ernte (4.12.74) mittlere Blätter (G)	mittlere Blätter (F)	11. Ernte (19.12.74)	15. Ernte (12.3.75)	14. Ernte (24.2.75)
Ianatosid A	172	135	129	118,5	110
Ianatosid B	60,6	63	56	56	33
Glucodigitoxigenin- bisdigitoxosid	-	-	63	-	-
Ianatosid C	222	97,5	115	77	194
Glevatro.	58,5	61	104,5	16	7
Glanadox.	116	99	75	28,5	38
Odorob. G	121	111,5	66,5	123,5	117
Glitor.	176	95	98	48	45
Gilverodox. (+5a)	273	142	5a) 127	101	125
Gldigifuc.	194	172	155	178	152
D.verum	68	77	73	63,5	73

Summe 1461 1 1053 1062 810 804

Anteile der Einzelglykoside an der Glykosidsumme bei Pflanzen, die im Freiland überwintern, im Vergleich zu Gewächshauspflanzen.

(G) = Gewächshaus, (F) = Freiland

	10. Ernte (4.12.74) mittlere Blätter (G)	mittlere Blätter (F)	11. Ernte (19.12.74) Rosette (F)	15. Ernte (12.3.75) Rosette (F)	14. Ernte (24.2.75) Rosette (G)
Lanatosid A	11,8	12,8	12,1	14,6	12,3
Lanatosid B	4,1	6	5,3	6,9	3,7
Glucodigitoxigenin- bisdigitoxosid	-	-	5,9	-	-
Lanatosid C	15,2	9,2	10,8	9,5	21,7
Glevatro.	4	5,8	9,8	2	0,8
Gllanadox.	7,9	9,4	7	3,5	4,2
Odorob. G	8,3	10,6	6,2	15,2	13
Glgitor.	12	9	9,2	5,9	5
Gilverodox. (+5a)	18,7	13,5	5a) 11,9	12,5	14
Gldigifuc.	13,3	16,3	14,6	22	17
D.verum	4,6	7,3	6,9	7,8	8,1

abgenommen (810 mg/100 g), liegt aber nur wenig unter dem Gehalt von Gewächshauspflanzen (894 mg), die am 24. Februar (14. Ernte) geerntet wurden. Die Werte der Einzelglykoside unterscheiden sich mit Ausnahme von Lanatosid C und B nur unwesentlich von denen der Gewächshauspflanzen. Der Gehalt an Lanatosid C liegt bei den Freilandpflanzen (77 mg/100 g) erheblich niedriger als bei den Gewächshauspflanzen sowohl der 14. Ernte (194 mg) als auch der 16. Ernte (27. März: 134 mg). Demgegenüber ist der relative Gehalt der Freilandpflanzen an Lanatosid B den Winter über fast konstant geblieben, während er bei den Gewächshauspflanzen der 15. Ernte abgesunken ist.

Ein Vergleich der Glykosidwerte von Freilandpflanzen der 10. und 16. Ernte läßt deutliche Abnahmen im Gehalt von Glucoevatromonosid, Glucolanadoxin, Glucogitorosid und Glucoverodoxin erkennen.

Zusammenfassend kann man sagen, daß unter dem Einfluß niedriger Temperaturen der Lanatosid C-Gehalt stark abfällt, daß aber der Gehalt von Lanatosid A, B, Digitalinum verum und Glucodigifucosid davon kaum beeinflußt wird. Für die übrigen Glykoside ist, wie Tabelle 9a und b zeigen, eine eindeutige Aussage nicht möglich.

2.3. Untersuchungen an Digitalis lanata und Digitalis purpurea während und nach der Blüte

2.3.1. Der Glykosidgehalt von Blättern, Kelchblättern und Blüten bei Digitalis purpurea

Das für die Untersuchungen benötigte Pflanzenmaterial wurde an zwei verschiedenen Standorten in der Umgebung Marburgs gesammelt. Das Material der 1. Ernte (23.6.74) stammte aus den Lahnbergen, ~ 1-2 km westlich von Ginseldorf, das der 2. Ernte (21.7.74) von einer Waldlichtung ~ 2 km nördlich von Marbach.

Blütenkrone und Kelch wurden sofort nach dem Abpflücken getrennt. Für die Trocknung und Aufarbeitung wurden die gleichen Methoden wie bei Digitalis lanata angewandt.

Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung der wichtigsten Glykoside sind in Tabelle 10a und b zusammengefaßt. In Abbildung 8 ist die Glykosidzusammensetzung von Blättern, Kelchblättern und Blütenkrone dargestellt.

Der Gesamtgehalt von Blättern, Kelchblättern und Blütenkrone zeigt kaum Unterschiede mit Ausnahme der Blätter der 2. Ernte, deren Gesamtgehalt nur knapp halb so hoch ist (s. Tabelle 10a). Betrachtet man jedoch die Glykosidzusammensetzung (s. Abb. 8), so sind deutliche Unterschiede zwischen Kelch und Krone einerseits und Blättern andererseits zu erkennen. Während Purpureaglykosid A, Glucogitaloxin und Purpureaglykosid B die Hauptglykoside der Blätter darstellen, so sind dies Digitalinum verum und Glucoverodoxin in Kelch und Krone. Das Verhältnis dieser beiden Glykoside stimmt jedoch

Fortsetzung S. 64

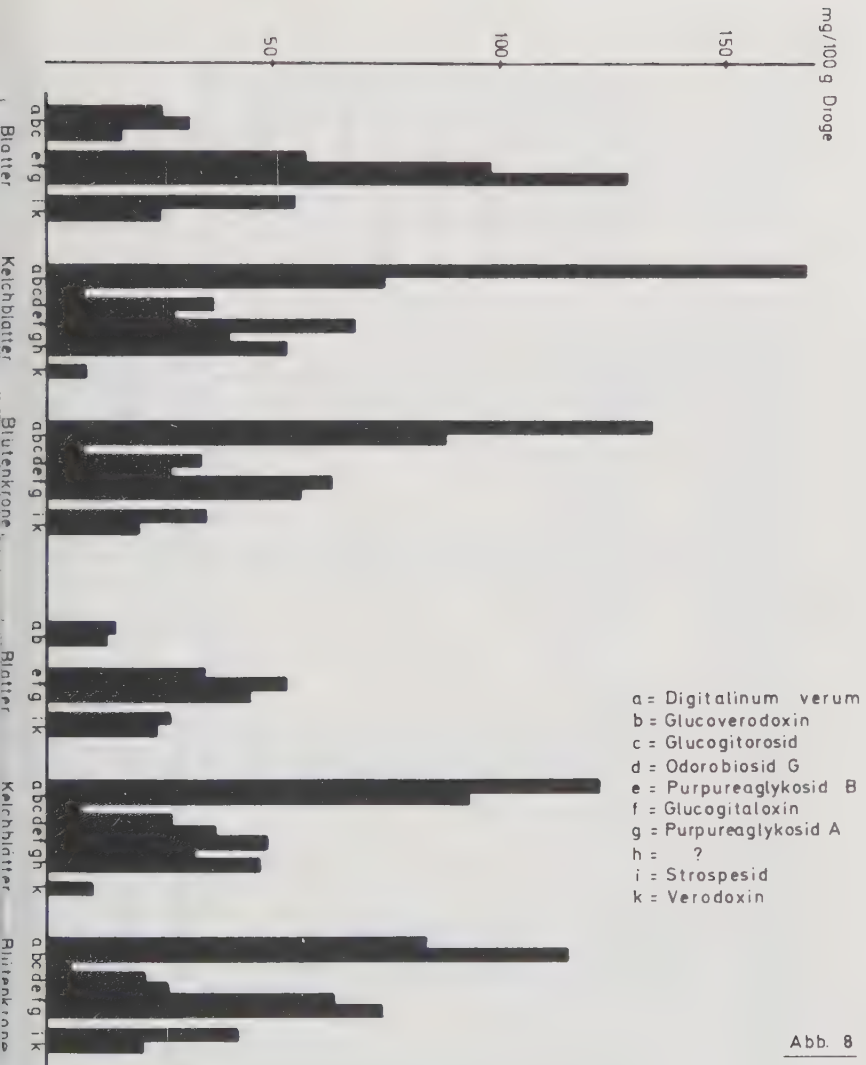


Abb. 8

Relativer Glykosidgehalt in Blättern, Kelchblättern und Blüten von *Digitalis purpurea*

von Digitalis purpurea (mg/100 g Droge)

	<u>1. Ernte</u>				<u>2. Ernte</u>			
	Blätter	Kelchblätter	Blütenkrone	Blätter	Kelchblätter	Blütenkrone		
Verodoxin	25	9	19,5	24	10,5	20,5		
Strospesid	55	-	35	27	-	41		
Fleck h	-	53	-	-	46,5	-		
Purpureäglykosid A	128	41	55,5	45	32,5	73,5		
Glucogitaloxin	98	68	63,5	53	49	63,5		
Purpureäglykosid B	57	28	27	25,5	37	26,5		
Odorobiosid G	-	37	34	-	27,5	22		
Glucogitorosid	18	8	8,5	-	8	4,5		
Glucoverodoxin	31,5	74	89	14	93,5	115		
D.verum	26	168	133	15	122	84		
Summe (Gesamtgehalt)	438,5	486	465	203,5	426,5	450,5		

Tabelle 10b : % Anteile an der Glykosidsumme in Blättern, Kelchblättern und
Blüten von *Digitalis purpurea*

	<u>1. Ernte</u>			<u>2. Ernte</u>		
	Blätter	Kelchblätter	Blütenkrone	Blätter	Kelchblätter	Blütenkrone
Verodoxin	5,7	1,8	4,2	11,8	2,4	4,5
Strospesid	12,5	-	7,5	13,2	-	9,1
Fleck h	-	10,9	-	-	10,9	-
Purpureaglykosid A	29,2	8,4	11,9	22,1	7,6	16,3
Glucogitaloxin	22,3	14	13,6	26	11,5	14,1
Purpureaglykosid B	13	5,7	5,8	12,5	8,6	5,9
Odoroblosid G	-	7,6	7,3	-	6,4	4,9
Glucogitorosid	4,1	1,6	1,8	-	1,9	1
Glucoverodoxin	7,2	15,2	19,1	6,9	21,9	25,5
D.verum	5,9	34,5	28,6	7,4	28,6	18,6

nicht völlig überein. In den Kelchblättern ist der Gehalt an Digitalinum verum bei beiden Ernten höher als in der Blütenkrone, demgegenüber ist hier der Glucoverodoxingehalt höher als in den Kelchblättern; gleiches gilt für den Gehalt an Purpureaglykosid A.

Im Kelch wurde außerdem ein unbekanntes Glykosid der Digitoxygeninreihe (gelbe Fluoreszenz mit Jensens-Reagenz) nachgewiesen, das mit einem Rf-Wert von 0,49 zwischen Purpureaglykosid A und Strosposid liegt und ausschließlich in den Kelchblättern vorkommt. Der Gehalt an Strosposid ist in den Kelchblättern nur sehr gering und wurde daher nicht quantitativ bestimmt. Abschließend ist festzustellen, daß sich die Glykosidzusammensetzung von Kelch und Krone weitgehend ähnelt, während sich die der Blätter davon deutlich unterscheidet.

2.3.2. Glykosidgehalt von Kelchblättern und Blüten bei *Digitalis lanata*

Die Ernte erfolgte am 28.7.75 gegen Ende der zweiten Vegetationsperiode; die Pflanzen standen zu dieser Zeit im Freien. Aus Tabelle 11 geht der relative Glykosidgehalt von Kelchblättern und Blüten hervor.

Dabei fällt zunächst die beträchtliche Differenz im Gesamtgehalt zwischen Kelchblättern (906 mg/100 g Droge) und Blüten (156 mg/100 g) auf. Der Gesamtgehalt der Kelchblätter entspricht etwa dem Gehalt von Rosettenblättern am Ende der ersten Vegetationsperiode. Ebenso ist die Zusammensetzung des Glykosids

Tabelle 11 : Relativer Glykosidgehalt in Kelchblättern
und Blüten von *Digitalis lanata*

(mg/100 g Droge)

	Kelchblätter	Blütenkrone
Lanatosid A	90	(+)
Verodoxin	-	33,4
Strospesid	(+)	(+)
Lanatosid B	(+)	-
Glucodigitoxigeninbisdigitoxosid	(+)	-
Lanatosid C	51	13
Glucocovatromonosid	33	(+)
Glucolanadoxin	61	22
Odorobiosid G	71	18,6
Glucogitorosid	61	(+)
Glucoverodoxin	313	17,6
Glucodigifucosid	112	(+)
Digitalinum verum	99	51,6
Glucogitofucosid	15	(+)
Summe	906	156,2

(+) = schwach positive Fluoreszenzreaktion
mit Jensens-Reagenz

gemisches mit der von Rosettenblättern vergleichbar. Hauptglykoside der Kelchblätter sind Glucoverodoxin, Glucodigifucosid, Digitalinum verum und Lanatosid A. In den Blüten lassen sich zwar die meisten dieser Glykoside ebenfalls noch nachweisen, jedoch ist die Konzentration z.T. so niedrig, daß sie für eine quantitative Bestimmung nicht mehr ausreichte. Auffallend gering ist der Anteil der Digitoxigeninglykoside Lanatosid A, Glucoevatromonosid und Glucodigifucosid sowie der Gehalt an Glucogitorosid.

Hauptglykosid der Blüten ist Digitalinum verum. Dieser Befund ähnelt den Ergebnissen bei *Digitalis purpurea* (s. Kapitel 2.3.1.). Während hier aber sowohl Gesamtgehalt als auch Glykosidzusammensetzung von Kelchblättern und Blüten weitgehend übereinstimmen, beträgt der Anteil des Gesamtglykosidgehaltes der *Digitalis lanata*-Blüten gemessen an dem der Kelchblätter nur etwa 17 %. Ähnliche Differenzen zeigt ein Vergleich der quantitativen Glykosidzusammensetzung von Kelchblättern und Blüten.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß für den Sekundärstoffwechsel der Blüten von *Digitalis lanata* und *purpurea* sehr unterschiedliche Wege vorgezeichnet sind.

2.3.3. Der Glykosidgehalt von Rosette und Wurzeln bei
Digitalis lanata nach der Blüte, Vergleich mit
Wurzeln, die im Winter geerntet wurden.

Zur Untersuchung wurden fünf im Freien gehaltene, eingetopfte Pflanzen herangezogen, die am Ende der 2. Vegetationsperiode standen. Die Pflanzen hatten bereits Samen angesetzt und der Blütenstand war samt Blättern vertrocknet. Ein Teil der Rosettenblätter war ebenfalls schon abgestorben bzw. fing an gelb zu werden. Untersucht wurden nur die Blattrosetten und getrennt voneinander die Wurzeln dreier Pflanzen. Dabei ergaben sich für die einzelnen Drogen folgende Trockengewichte:

Wurzeln I	6,2 g
Wurzeln II	3,5 g
Wurzeln III	3,0 g
eine Rosette	30,0 g

In Tabelle 12 ist die Glykosidzusammensetzung von Wurzeln und Blattrosette der 18. Ernte sowie von Wurzeln der 11. und 15. Ernte, die im Winter geerntet wurden, angegeben. Danach ist der Glykosidgehalt der Blätter stark abgesunken. Dies gilt für alle Glykoside mit Ausnahme von Glucodigifucosid und Glucogitorosid. Die Höhe des Glykosidgehaltes in den Wurzeln scheint weitgehend unabhängig von dem der Blätter zu sein. Während sich bei der 11. bzw. 15. Ernte für die Blätter ein Gesamtgehalt von etwa 1000 bzw. 800 mg/100 g Droge ergab (s. Tabelle 9a), findet man hier nur noch etwa 500 mg (s. Tab.12). Demgegenüber sind beim Gesamtgehalt der Wurzeln mit Ausnahme von W.III keine auffallenden Unterschiede zu erkennen. Zu den

Tabelle 12 :

Relativer Glykosidgehalt von Blattrosette und Wurzeln nach der Blüte
und von Wurzeln der 11. und 15. Ernte (mg/100 g Droge)

	Blattrosette	Wurzeln I	Wurzeln II	Wurzeln III	Wurzeln 11. Ernte	Wurzeln 15. Ernte
Lanatosid A	48,5	-	-	-	-	-
Verodoxin	-	-	10,5	22,5	(+)	(+)
Strospesid	-	8	13	30	39	23,5
Lanatosid B	-	-	-	-	-	-
Glucodigitoxigenin- bisdigitoxosid	-	-	-	-	(+)	-
Lanatosid C	77,5	-	-	-	-	-
Glucosavatromonosid	8	-	8,5	8	39	6
Glucolanadoxin	34	13,5	20	20,5	25	15
Odorobiosid G	33	19,5	11,5	23	(+)	31
Glucoglitoxosid	95	22	36	42	(+)	21
Glucoverodoxin	45	-	30	46	-	19,5
Glucodigitoxigenin- glucomethyllosid	-	30,5	-	-	-	-
Glucodigitifucosid	138	-	-	-	(+)	-
D. verum	48,5	28	24	30	(+)	28,6
Glucogitofucosid	-	5	8,5	11,5	-	-
Summe	527,5	126,5	162	233,5	103	144,6

Hauptglykosiden der Wurzeln gehören die Diglykoside Digitalinum verum, Glucoverodoxin, Glucogitorosid, Odorobiosid G und Glucolanadoxin sowie als Sekundärglykosid Strosipesid (s. Kapitel 2.2.2., Wurzeln der Keimpflanzen). Glucoevatromonosid, das bei der 11. Ernte ein Hauptglykosid darstellt, kommt in den anderen Wurzelrogon nur in sehr geringer Konzentration vor. Lanatoside scheinen in der Wurzel weder gebildet noch dorthin transportiert zu werden.

3. Versuche mit ^{14}C -markierten Glykosiden

Aus den Veränderungen der quantitativen Zusammensetzung des Glykosidgemisches während der ersten Vegetationsperiode ergaben sich Fragen, deren Lösung wir durch den Einsatz von radioaktiv markierten Glykosiden näher zu kommen hofften. Arbeiten, die in diese Richtung zielen, liegen bisher nur sehr spärlich vor.

1974 haben Nánási und Mitarb. Untersuchungen über die Biosynthese der Lanatoside mit Tritium-markierten Geninen durchgeführt ¹⁶⁾. 1975 haben dieselben Autoren mit Tritium-markiertem Progesteron und Pregnenolon die Einbauraten in Lanatoside und Sekundärglykoside zu verschiedenen Jahreszeiten (Sommer, Herbst) geprüft ¹⁷⁾.

Evans und Cowley ²⁰⁾ untersuchten 1973 bei *Digitalis purpurea* durch Begasung mit $^{14}\text{CO}_2$ die relativen Biosyntheseraten von Cardenoliden und Sapogeninen.

Von den bisher angewandten Applikationstechniken - Dochtmethode (s. Reichstein 1964 ⁷⁾) und Aufbringen einer Acetonlösung auf die Blattoberfläche (s. Nánási u. Mitarb. ¹⁶⁾) - erschienen uns einerseits die Dochtmethode relativ umständlich, das Aufbringen einer Lösung auf die Blattoberfläche dagegen zu unsicher hinsichtlich der Aufnahme ins Blatt. Wir entschieden uns deshalb, die Lösung mittels Hamilton-Spritze in den Mittelnerv zu injizieren (s. exper. Teil). Auf diese Weise wurde ^{14}C -markiertes Natriumacetat an junge *Digitalis lanata*-Pflanzen verabreicht, um auf dem Wege der Biosynthese ^{14}C -markierte Glykoside zu erhalten. Nach deren Isolierung

urde an mehrere Pflanzen immer ein bestimmtes Glykosid appliziert und dessen Umwandlung in andere Glykoside nach einigen Tagen oder Wochen untersucht.

Mit diesen Versuchen wurde im Sommer 1975 begonnen. Bei Einsatz von 0,5 mC ^{14}C -Acetat konnten jedoch nur fünf Glykoside mit ausreichend hoher Markierung gewonnen werden, bei denen die Aktivität der Umwandlungsprodukte noch gut meßbar war. Im Sommer 1976 wurden die Markierungsversuche mit 3,5 mC fortgesetzt. Diesmal konnten zehn Glykoside isoliert werden, wobei jeweils an sechs Pflanzen (Vorjahr: an 2 bzw. 3) dasselbe Glykosid appliziert wurde.

1. Vorversuch (Sommer 1975)

In einem Vorversuch sollte geklärt werden, wann die Ernte mit ^{14}C -Acetat behandelten Pflanzen am günstigsten ist. Hierzu wurden 0,5 mC ^{14}C -Acetat an junge Pflanzen gegeben und nach einer, zwei und drei Wochen die Aktivität in den mittleren Blättern der Rosette untersucht.

Abbildung 9 gibt die Aktivität (cpm) der chromatographisch getrennten Zonen eines Glykosidextraktes an (aufgetragene Menge: 0,12 g Droge), wobei die Ernten 1, 2 oder 3 Wochen nach der Acetat-Applikation erfolgten. Während bereits nach einer Woche die Aktivität in den Sekundärglykosiden, Lanatosid D, Lanatosid E und Glucoevatromonosid ein Maximum erreicht hat, steigt sie in den übrigen Lanatosiden (außer Lanatosid A) und allen Diglykosiden bis zur dritten Woche nach der Applikation noch an.

Abb. 9 : Aktivität der chromatographisch aufgetrennten Glykosidzonen von Extrakten, die 1, 2 oder 3 Wochen nach der Acetat-Applikation geerntet wurden.

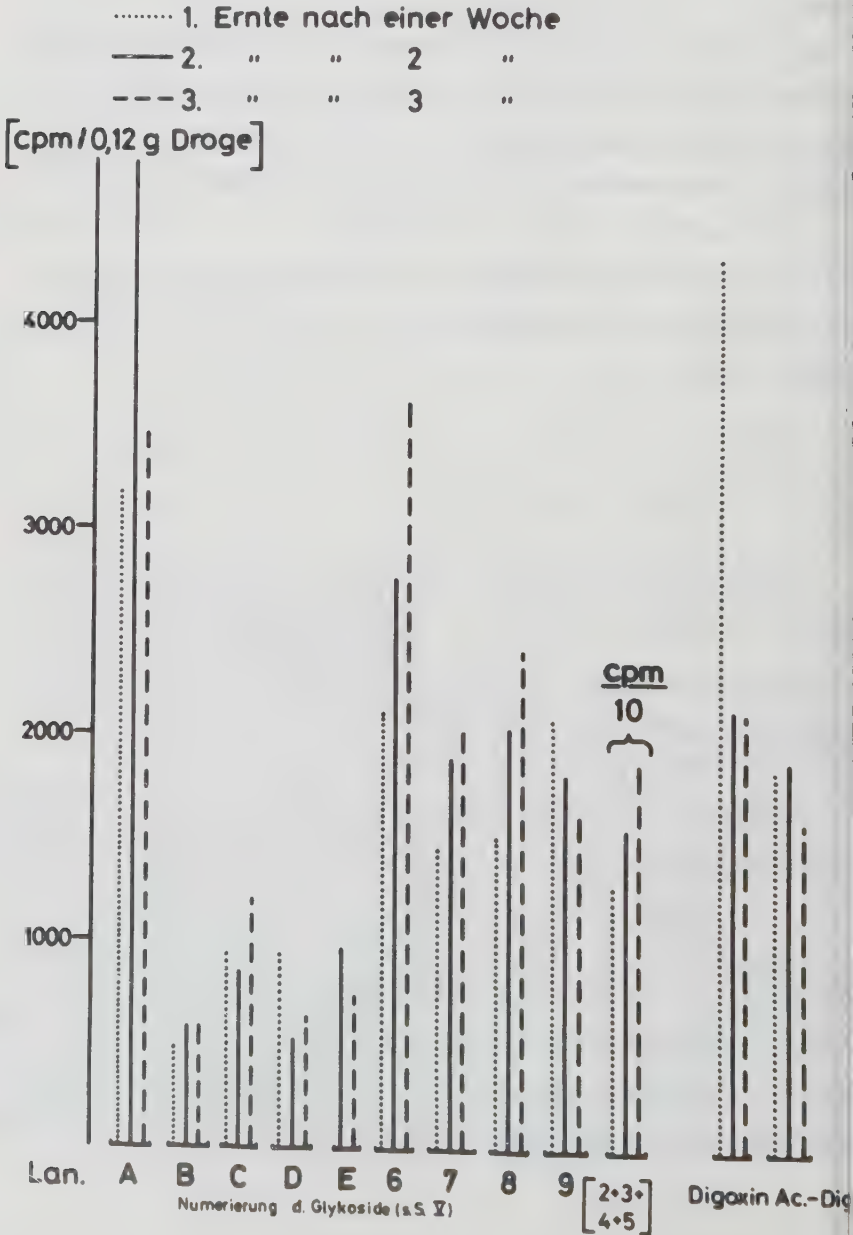
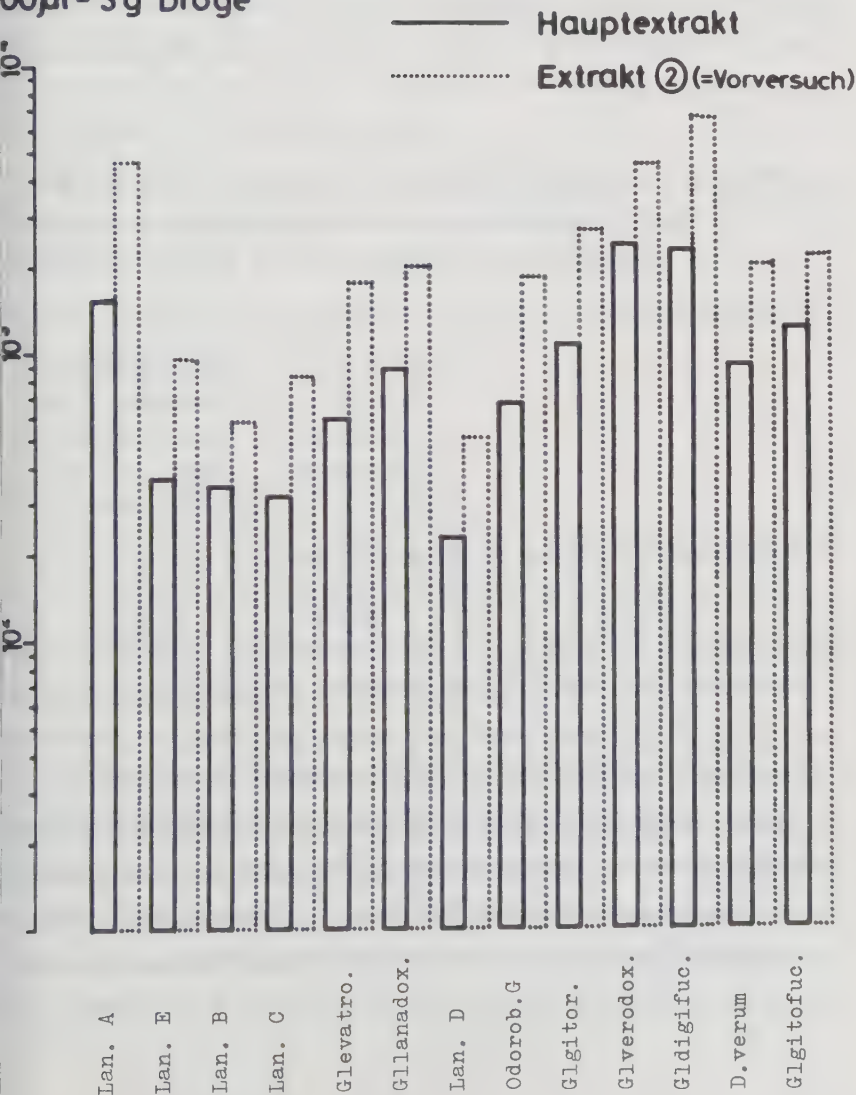


Abb. 10

Vergleich d. Radioaktivität
im Hauptextrakt und in
Extrakt ② des Vorversuchs

[cpm/20µl]
100µl ± 3g Droge



3.2. Hauptversuch (Sommer 1976)

3.2.1. Gewinnung von markierten Glykosiden mittels Biosynthese

Für den Hauptversuch wurden 122 Pflanzen mit 3 mC ^{14}C -markiertem Natriumacetat behandelt und nach zwei Wochen - diesem Zeitraum erschien nach den Ergebnissen des Vorversuchs angemessen - geerntet.

Tabelle 13 : Gesamtaktivität der Glykosidextrakte des Vor- und Hauptversuchs, die nach Applikation von ^{14}C -markiertem Natriumacetat gewonnen wurden.

	cpm/0,1 g extrahierter Droge	Verhältnis der Gesamtaktivitäten der Vorversuche und des Hauptversuchs
Vorversuch: Ernte nach 1 Woche	52400	2,3
" " " 2 Wochen	49700	2,2
" " " 3 "	52250	2,3
Hauptversuch: " " 2 "	22920	1

Nach der Trocknung und Extraktion wurden sowohl die Gesamtaktivität (s. Tabelle 13) als auch die Einzelaktivitäten des aufgetrennten Glykosidextraktes bestimmt (s. Abbildung 10). Sowohl Tabelle 13 als auch Abbildung 10 zeigen, daß das im Hauptversuch gewonnene Glykosidgemisch wesentlich geringere Aktivität aufweist als die Extrakte der drei Vorversuche.

Diese Differenz läßt sich dadurch erklären, daß für die Durchführung der Vorversuche - um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten - nur Blätter aus dem mittleren Teil der Rosette genommen wurden, die auch zur Injektion am besten geeignet waren. Der Hauptextrakt wurde aus den ganzen Rosetten hergestellt. Eine Verdünnung der Aktivität durch die unteren (älteren) und die oberen (jungen) Blätter, die für die Injektion noch zu zart waren, war daher zu erwarten.

Nánási und Mitarb. geben in ihrer Untersuchung über die Produktion von Cardenolidglykosiden in *Digitalis lanata* ¹⁷⁾ an, daß die Glykoside nicht behandelter Blätter keine Aktivität aufweisen, was darauf hindeutet, daß ein Transport innerhalb der gesamten Pflanze nicht erfolgt.

3.2.2. Isolierung der Glykoside

Zur Trennung des Glykosidgemisches wurde der Extraktückstand in Chloroform-Methanol (1+1) gelöst und zur papierchromatographischen Trennung verwandt (s. exper. Teil). Bei einer Chromatographiedauer von 5-6 Stunden konnten Lanatosid A und Lanatosid B abgetrennt werden. Der restliche Anteil wurde vom Papier eluiert und nochmals einer pc-Trennung unterzogen. Die Lanatosid C und Glucoevatromonosid enthaltende Zone I sowie Zone II, die die polaren Diglykoside enthielt, wurden getrennt eluiert. Die Trennung erfolgte im Durchlaufchromatogramm mit 16 Std. (Zone I) bzw. 20 Std. (Zone II) Laufzeit (s. Abbildung 11).

Auf diese Weise konnten durch Elution der betreffenden Glykosidzonen mit Methanol zehn Glykoside erhalten werden. Aus Tabelle 14 gehen die jeweils isolierte Glykosidmenge, der Glykosidgehalt des gesamten aufgetrennten Extraktes (= 9,5 g), die zugehörigen Zählraten und die spezifische Aktivität (cpm/1 mg) hervor.

Die meisten Glykoside konnten mit relativ guter Ausbeute zwischen 50 und 60 % gewonnen werden. Der Anteil von Glucolanadoxin ist dagegen auffallend niedrig, was durch die leicht erfolgende Abspaltung der Formylgruppe (während der Aufarbeitung) zu erklären ist.

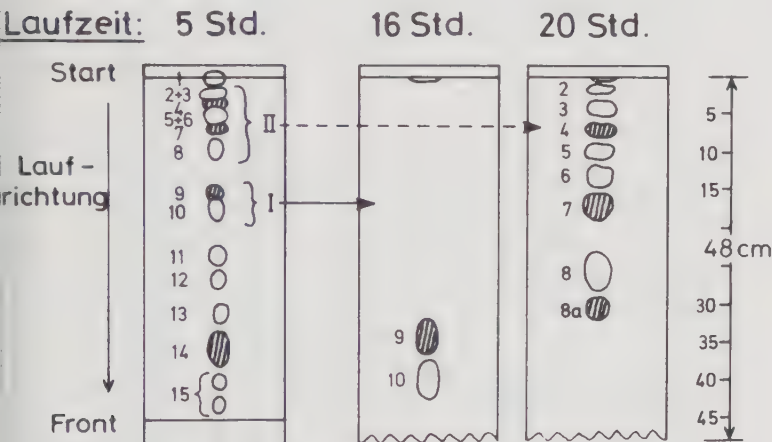
Fortsetzung S. 80

Abbildung 11 :

Schematische Darstellung der papierchromatographischen Trennung von Cardenolidglykosiden aus *Digitalis lanata* bei unterschiedlicher Chromatographiedauer, absteigende Chromatographie

Fließmittel: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid (50+50+6,5)

Formamid-imprägniertes Papier



1 = Startfleck (braun)

2 = Glucogitifucosid

3 = Digitalinum verum

4 = Glucodigifucosid

5 = Glucoverodoxin

6 = Glucogitorosid

7 = Odorobiosid G

8 = Glucolanadoxin

8a = ?

9 = Glucoevatromonosid

10 = Lanatosid C

11 = Lanatosid B

12 = Strosipesid

13 = Lanatosid E

14 = Lanatosid A

15 = Sekundärglykoside

○ bei 365 nm blau fluoreszierende Flecken } nach Besprühen
 ● bei 365 nm gelb fluoreszierende Flecken } mit Jensens-Reagenz

Tabelle 14 : Angaben zur Charakterisierung der isolierten ^{14}C -markierten Glykoside und Vergleich ihrer spezifischen Aktivitäten.

isolierte ¹⁴ C Glykoside (1976)	Zählrate bezogen auf (1) (cpm)	(1) isolierte Glykosidmenge (mg)	(2) Glykosid- gehalt von 9,5 g Extrakt (mg)	%Anteil d. isol. Glykoside (1) an (2)	cpm/ 1 mg %uale Ver- teilung	Zählrate %ual (errechnet) Ver- bezogen teil auf (2) (cpm) lung		
Ian. A	1059500	140	297	47,1	7568	5,8	2247653	15
Ian. B	130730	13,7	36	38	9542	7,3	343524	2,3
Ian. C	162575	53,4	150	35,6	3044	2,3	456670	3
Glevatro.	527200	29	69	42	18180	13,9	1254372	8,4
Glanadox.	502000	35,4	134	26,4	14180	10,8	1900226	12,7
Odorob. G	647200	65,2	109	59,8	9926	7,6	1081975	7,2
Glgitor.	1479300	114	164	69,5	12976	9,9	2128115	14,2
Gldigifuc.	1985720	198	409	48,4	10030	7,6	4101815	27,4
D. verum	802010	56,4	103	54,7	14220	10,8	1464663	9,8
Glgitofuc.	78939	2,52	-	-	31325	23,9	-	-

Tabelle 14⁺ : Angaben zur Charakterisierung der isolierten ¹⁴C-markierten Glykoside und Vergleich ihrer spezifischen Aktivitäten.

isolierte ¹⁴ C-Glykoside (1975)	Zählrate bezogen auf (1) (cpm)	(1) isolierte Glykosid- menge (mg)	(2) Glykosid- gehalt von 3,7 g Extrakt (mg)	% Anteil d. isolier- ten Glyko- side (1) an (2)	cpm/1mg	Zählrate bezogen auf (2) (cpm)	%uale Verteil- lung
Lan. A	152100	15,3	62,2	24,6	9940	618270	16,9
Lan. G	26600	2,7	31,6	8,5	9850	311260	8,5
Glgitor.	44400	3,3	14,7	22,5	13460	197860	5,4
Gldigifuc.	205200	13,6	114	12	15080	1719120	47
D.verum	77730	2,3	24	9,6	33800	811200	22,2

Beim Vergleich der spezifischen Zählraten (cpm/1 mg Glykosid) sind im wesentlichen zwei Gruppen unterschiedlich hoher Markierung erkennbar:

- a) Glucodigifucosid, Odorobiosid G und die Lanatoside A und B (7500 - 10000 cpm/1 mg)
- b) Glucoevatromonosid, Glucolanadoxin, Digitalinum verum und Glucogitorosid (13000 - 18000 cpm/1 mg)

Hingegen lassen sich Lanatosid C und Glucogitofucosid wegen ihrer auffallend niedrigen bzw. hohen Markierung nicht den Gruppen a) oder b) zuordnen.

Eine Übereinstimmung dieser Ergebnisse mit denen des Vorjahres (1975) liegt zumindest teilweise vor (s. Tabelle 14⁺). Lanatosid A war auch hier deutlich niedriger markiert als die Diglykoside, Lanatosid C aber ebenso hoch wie Lanatosid A. Unter den Diglykosiden erwies sich Digitalinum verum wesentlich höher markiert als im Jahr 1976.

In Tabelle 15 sind die Verunreinigungen der isolierten Glykoside aufgeführt. Besonders stark verunreinigt sind Lanatosid C (mit 50,6 % Glucoevatromonosid), Glucogitorosid (mit 27 % Glucodigitoxigeninglucomethylosid) und Digitalinum verum (mit 43 % Glucodigifucosid). Dies wird bei der späteren Diskussion zu berücksichtigen sein.

elle 15 : Angaben über radioaktive Verunreinigungen der isolierten ^{14}C -markierten Glykoside.

bedeutet, daß die Verunreinigung nicht identifiziert werden konnte.

Fleck a) schwach gelbe Fluoreszenz mit Jensens-Reagenz, liegt direkt über Odorobiosid G (Rf Fleck a > Rf Odorob.G)

Fleck b) sehr schwach gelbe Fluoreszenz mit Jensens-Reagenz, liegt direkt über Glucodigifucosid (Rf Fleck b) > Rf Glucodigifucosid)

Fleck c) sehr schwach blaue Fluoreszenz mit Jensens-Reagenz (Rf Fleck c < Rf Glucodigifucosid)

isolierte Glykoside (= Verunreinigung)	isolierte Glykosidmenge (mg)	Zählrate (absolut) (cpm)	%Anteil d.V. am Haupt- glyk.	cpm/1mg
. A	140	1059500	100	7568
Man.E	9	98000	9,2	10890
Sekundärgl.	-	23000	2,2	
Startfleck	-	80000	7,5	
. B	13,7	130730	100	9542
Purp.A	-	29070	22,2	
Strospesid	-	30770	23,5	
Startfleck	-	57290	43,8	
. C	53,4	162575	100	3044
Glevatro.	4,4	82250	50,6	18690
10a	-	39550	24,3	
Startfleck	-	14378	8,8	
vatro.	29	527200	100	18180
Lan.C	-	11360	2,1	
Startfleck	-	13600	2,6	

Fortsetzung Tabelle 15 :

isolierte ¹⁴ C Glykoside (V.= Verunreinigung)	isolierte Glykosidmenge (mg)	Zählrate (absolut) (cpm)	%Anteil d.V. am Haupt- glyk.	cpm/1mg
Gllanadox.	35,4	502000	100	14180
V. Glgitor.	5,7	86000	17,1	15090
V. Startfleck	-	31200	6,2	
Odorob.G	65,2	647200	100	9926
V.? Fleck a)	-	87200	13,5	
V. Startfleck	-	24000	3,7	
Glgitor.	114	1479300	100	12976
V. Odorob.G	13,3	150000	10,1	11280
V. 5a	24	401400	27,1	16725
V. Startfleck	-	97200	6,6	
Gldigifuc.	198	1985720	100	10030
V.? Fleck b)	-	16060	0,81	
V.? Fleck c)	-	29260	1,5	
V. Startfleck	-	18700	0,94	
D.verum	56,4	802010	100	14220
V. Gldigifuc.	37	346380	43,2	9360
V. Glgitofuc.	-	55890	7	
V. Startfleck	-	69690	8,7	
Glgitofuc.	2,52	78939	100	31325
V. D.verum	0,58	20186	25,6	34800
V. Startfleck	-	17898	22,6	

5a = Glucodigitoxigeninglucomethylsidosid

3.2.3. Applikation der ^{14}C -markierten Glykoside an
Digitalis lanata-Pflanzen

Die isolierten Glykoside wurden an Pflanzen appliziert, die zur selben Zeit (Anfang März) ausgesät wurden, wie die mit Acetat behandelten (s. exper. Teil). Jeweils sechs Pflanzen bekamen dasselbe Glykosid (Glucogitofucosid nur an 5 Pflanzen) in annähernd gleicher Konzentration (s. Tabelle 16). Im Vorjahr konnten wegen der geringen Glykosidausbeuten nur drei bzw. zwei Pflanzen mit einem Glykosid behandelt werden (s. Tabelle 16⁺), die nach 8 bzw. 12 Tagen geerntet wurden. Wegen der geringen Anzahl an Pflanzen war eine weitergehende Staffe- lung der Erntezeitpunkte nicht möglich. Im Jahr 1976 erfolgte die Ernte nach 2, 6, 19 und 26 Tagen, um eventuell Glykosid- umwandlungen in Abhängigkeit von der Zeit erkennen zu können.

3.2.4. Untersuchung der ^{14}C -markierten Pflanzen

3.2.4.1. Untersuchung der Glykoside

Nach Trocknung, Extraktion und Aufarbeitung wurden Papier- chromatogramme mit 5 und 18 Stunden Laufzeit angefertigt und die Bestimmung der Radioaktivität der einzelnen Glykoside im Flüssigszintillationszähler vorgenommen. Die einzelnen Glyko- sidflecke wurden, nachdem sie mit Jensens-Reagenz besprüht worden waren, ausgeschnitten und direkt in Szintillations- lösung gegeben (genauere Beschreibung s. exper. Teil).

Wiedergefundene Aktivität

c) Gesamtaktivität (+Verunreinigung)		im applizierten Glykosid		wiedergef. Gesamtakt.	
Zählrate (cpm)	%Anteil der Verunr.an der Gesamtakt.	wiedergef.Aktivität cpm/Pfl.	%Anteil an b)	cpm/Pfl.	%Anteil an c)
52940	16	15353	34,5	28550	53,9
50420		13984	33	29450	58,4
52940		16688	37,5	34008	64,2
50420		7240	17,1	19430	38,5
35294		6140	20,7	16838	47,7
50420		7408	17,5	20060	39,8
14580	47,3	4642	60,4	22057	151
14580		4565	59,4	21607	148
14580		4595	59,75	25469	174
16038		3117	36,8	22834	142
14580		2199	28,6	19725	135
14580		2189	28,4	14856	102

elle 16a :

ammenfassung der Daten über die applizierte und wiedergefundene
ivität bzw. Glykosidmenge bei Digitalis lanata-Pflanzen.

Appl. Glykosidmenge
bzw. Aktivität

Pflanze (Nr.1-60)			vorhandener Gehalt (nach Applikation) mg/Pflanze	a)applizierte Glykosidmenge		b)Aktivität des Haupt- glykosids: Zählrate von a) (cpm)
handelt mit ↓	Ernte nach x Tagen ↓			mg/Pfl.	%Gehalt d.Lösung	
<u>1. A</u>	42	2	16,6	5,9	2,8	44500
	43	6	15,1	5,6		42380
	46		13,2	5,9		44500
	44	19	19,7	5,6		42380
	45		8,5	3,9		29666
	47	26	12,6	5,6		42380
<u>1. B</u>	48	2	5,1	0,8	0,4	7690
	49	6	1,9	0,8		7690
	50		2,6	0,8		7690
	51	19	4,5	0,88		8459
	52		3	0,8		7690
	53	26	2	0,8		7690

Wiedergefundene Aktivität

c) Gesamtaktivität (+Verunreinigung)		im applizierten Glykosid		wiedergefundene Gesamtaktivität	
Zählrate (cpm)	%Anteil der Verunr. an der Gesamtakt.	wiedergef. Aktivität cpm/Pfl.	%Anteil an b)	cpm/Pfl.	%Anteil an c)
19620	45,6	5875	55	16883	86
18766		4638	45,4	14955	79,7
14500		3752	47,5	14095	97,2
13650		2525	34	8559	62,7
17060		3932	42,3	12310	72,1
18766		3614	35,4	10477	55,8
34510	4,5	25076	76,1	49036	142
37960		22212	61,3	50213	132
24157		16039	69,5	23968	99
24157		3888	16,8	14273	59,1
25882		3540	14,3	18930	73,1
29333		4695	16,7	19920	71,1
30960	19	5587	22,25	29484	95,2
27864		4813	21,3	26225	94,1
30960		3322	13,2	21593	69,7
30960		3778	15	22365	72,2
27864		4224	18,7	17777	63,8
27864		2723	12	13277	47,6

elle 16b :

ammenfassung der Daten über die applizierte und wiedergefundene
ivität bzw. Glykosidmenge bei *Digitalis lanata*-Pflanzen.

Appl. Glykosidmenge
bzw. Aktivität

Pflanze (Nr.1-60)			vorhandener Gehalt (nach Applikation) mg/Pflanze	a)applizierte Glykosidmenge mg/Pfl. %Gehalt d.Lösung		b)Aktivität des Haupt- glykosids: Zählrate von a) (cpm)
andelt	Ernte nach					
it	x Tagen					
	</					

Wiedergefundene Aktivität

c) Gesamtaktivität (+Verunreinigung)		im applizierten Glykosid		wiedergefundene Gesamtaktivität	
Zählrate (cpm)	%Anteil der Verunr. an der Gesamtakt.	wiedergef. Aktivität cpm/Pfl.	%Anteil an b)	cpm/Pfl.	%Anteil an c)
26544	14	28170	123,4	35370	133
26544		21087	92,4	35753	134
30336		20338	78	26462	87,2
34128		25245	86	30330	88,8
26544		22600	99	27520	103,6
36024		19136	61,7	25067	69,6
85116	30,5	36603	61,85	57140	67,1
78023		18642	34,4	35841	45,9
99302		25684	37,2	47318	47,6
85116		13281	22,4	32805	38,5
85116		9656	16,3	37651	44,2
70930		7332	14,9	30254	42,6
102487	3,13	61756	62,2	74493	72,7
93170		32918	36,5	40272	43,2
102487		51960	52,3	62832	61,3
102487		47424	47,7	54740	53,4
102487		52215	52,6	63502	61,9
130438		40136	31,8	56120	43

elle 16c :

ammenfassung der Daten über die applizierte und wiedergefundene
ivität bzw. Glykosidmenge bei Digitalis lanata-Pflanzen.

Appl. Glykosidmenge
bzw. Aktivität

Pflanze (Nr.1-60)			vorhandener Gehalt (nach Applikation) mg/Pflanze	a)applizierte Glykosidmenge		b)Aktivität des Haupt- glykosids: Zählrate von a) (cpm)
andelt	Ernte nach	x Tagen		mg/Pfl.	%Gehalt d.Lösung	
it						
		↓				
ro-	24	2	5	2,28	1,6	22827
sid G	25		4,8	2,28		22827
	27	6	4,64	2,6		26088
	28		6	2,9		29350
	29	19	4,9	2,28		22827
	26	26	3,27	3,1		30980
co-	14	2	6	4,56	3,8	59172
o-	13		4,47	4,18		54241
id	17	6	11,77	5,32		69034
	15		4,6	4,56		59172
	16	19	3,5	4,56		59172
	18	26	3,7	3,8		49310
co-	7	2	13,5	9,9	9	99286
ifu-	8		8,5	9		90260
id	9	6	22,5	9,9		99286
	10		18,8	9,9		99286
	11	19	25,4	9,9		99286
	12	26	18	12,6		126364

Wiedergefundene Aktivität

c) Gesamtaktivität (+Verunreinigung)		im applizierten Glykosid		wiedergefundene Gesamtaktivität	
Zählrate (cpm)	%Anteil der Verunr. an der Gesamtakt.	wiedergef. Aktivität cpm/Pfl.	%Anteil an b)	wiedergef. Aktivität cpm/Pfl.	%Anteil an c)
62036	37	10905	27,9	22116	35,6
86408		15185	27,9	34176	39,5
93055		17568	30	40404	43,4
77546		10151	20,8	23683	30,5
70899		11364	25,4	31425	44,3
84193		12387	23,4	34857	41,4
16382	32,6	11200	101,3	21882	133
18722		7320	58	20589	110
16382		7230	65,4	18450	112
19892		5412	40,3	14645	73,6
17552		4740	40	15282	87

elle 16d :

ammenfassung der Daten über die applizierte und wiedergefundene
ivität bzw. Glykosidmenge bei Digitalis lanata-Pflanzen.

Appl. Glykosidmenge
bzw. Aktivität

Pflanze (Nr.1-60)			vorhandener Gehalt (nach Applikation) mg/Pflanze	a)applizierte Glykosidmenge %Gehalt mg/Pfl. d.Lösung		b)Aktivität des Haupt- glykosids: Zählrate von a) (cpm)
behandelt	Ernte nach	x Tagen				
it						
↓		↓				
<u>erum</u>	38	2	5,34	2,74	2,4	39054
	36	6	6,2	3,82		54397
	37		7,13	4,1		58581
	39	19	8,15	3,43		48818
	41		7,06	3,14		44633
	40	26	4,32	3,73		53002
<u>co-</u>	20	2	1,07	0,35	0,25	11051
<u>ofu-</u>	19	6	1,64	0,4		12630
<u>id</u>	21		1,27	0,35		11051
	22	19	2,27	0,43		13419
	23	26	1,55	0,38		11840

Wiedergefundene Aktivität

c) Gesamtaktivität (+Verunreinigung)		im applizierten Glykosid		wiedergefundene Gesamtaktivität	
Zählrate (cpm)	%Anteil der Verunr. an der Gesamtakt.	wiedergef. Aktivität cpm/Pfl.	%Anteil an b)	cpm/Pfl.	%Anteil an c)
63036	19,6	11200	22,1	21890	34,7
63036		15034	29,8	31631	50,2
63036		22703	44,8	36144	57,3
13757	21,2	1297	12	3249	23,6
15883		1767	14,1	2446	15,4
20180		6893	34,1	12368	61,3
20180	-	4036	20	8317	41,1
66690		18450	27,7	24800	37,2
74837	-	22922	30,6	29247	39
59447		12237	20,6	17768	29,8
40144	11,6	16525	46,5	27684	69
40144		11282	31,8	18205	45,3

Seite 16 + :

Zusammenfassung der Daten über die applizierte und wiedergefundene Aktivität bzw. Glykosidmenge bei *Digitalis lanata*-Pflanzen.

Appl. Glykosidmenge
bzw. Aktivität

Pflanze		Ernte nach x Tagen	vorhandener Gehalt (nach Applikation) mg/Pflanze	a) applizierte Glykosidmenge		b) Aktivität des Haupt- glykosids Zählrate von a) (cpm)
Handelt mit ↓				mg/Pfl.	%Gehalt d. Lösung	
<u>A</u>	II	8	12,2	5	2,5	50700
	III		14,2	5		50700
	I	12	7,2	5		50700
<u>C</u>	I	8	3,5	1,1	0,9	10837
	II		1,4	1,27		12512
<u>co- p- id</u>	I	8	1,76	1,5	0,82	20180
	II		1,53	1,5		20180
<u>co- ifu- id</u>	I	8	4,9	4,42	1,2	66690
	III		6,1	4,96		74837
	II	12	5	3,94		59447
<u>erum</u>	I	8	1,3	1,05	0,57	35485
	II		1,5	1,05		35485

us der Tabelle 16 gehen die jeweils applizierte Glykosidmenge sowie deren Aktivität und die in der entsprechenden Pflanze wiedergefundene Aktivität hervor.

Bereits zwei Tage nach der Injektion hat ein Umbau des applizierten Glykosides stattgefunden (s. Tabelle 16, % Anteil an b). Die Wiederfindungsrate sowohl der Aktivität des applizierten Glykosides als auch der Gesamtaktivität nimmt mit längerer hin- usgezögerter Ernte (nach 19 bzw. 26 Tagen) allmählich ab. Dies kann möglicherweise durch Abbau zu noch besser wasserlöslichen Substanzen bedingt sein, die dann bei der Aufarbeitung nicht mehr erfaßt wurden, oder auch durch Ausscheiden in Form von $^{14}\text{CO}_2$. Zur Zeit läßt sich nicht erklären, weshalb bei einigen applizierten Glykosiden (Lanatosid B, Glucoevatromonosid, Adorbiosid G und Glucogitofucosid) über 100 % Gesamtaktivität wiedergefunden wurden. Überprüfungen der Ausgangsaktivitäten brachten hier keine Klärung.

Die Verteilung der Aktivität nach Applikation eines bestimmten Glykosides sowie die quantitative Glykosidzusammensetzung bei den verschiedenen Pflanzen sind aus den Tabellen 7a bis 26f^{+) zu entnehmen. Die Reihenfolge der aufgeführten Glykoside pro Pflanze (Lanatosid A, E....., Startfleck) entspricht der Folge der Flecken im Papierchromatogramm.}

a } nicht identifiziert, gelbe Fluoreszenz mit Jensens-
b } Reagenz bei 365 nm

) befinden sich im Anhang S. 187 - 257

Von links nach rechts sind angegeben:

- 1) die Zählrate in counts per minute (cpm), wobei die μl -Angabe sich auf den papierchromatographisch aufgetrennten Anteil an Stammlösung ($B = 500 \mu\text{l}$) bezieht (Herstellung s. exper. Teil),
- 2) die errechnete Zählrate pro Pflanze, dazu das Trockengewicht der Pflanze und die der gesamten Stammlösung entsprechende Drogenmenge,
- 3) die prozentuale Verteilung der Zählraten,
- 4) die % Anteile an der Zählrate des applizierten Glykosides, die gleich 100 % gesetzt wurde. Diese Werte sind in den Abbildungen 22 bis 31 graphisch dargestellt.
- 5) der Glykosidgehalt bezogen auf 100 g Droge, sowie die % Anteile am Gesamtglykosidgehalt.

Zur Verdeutlichung der Aktivitätsverteilung innerhalb der Glykosidfraktion sind für jedes applizierte Glykosid bzw. die damit behandelten sechs Pflanzen die gemessenen Zählraten im logarithmischen Maßstab dargestellt (s. Abbildung 12 bis 21)⁺. Bei denjenigen Glykosiden, von denen auch Ergebnisse des Jahres 1975 vorliegen, sind diese zusammen mit den Werten des Jahres 1976 in einem Diagramm aufgeführt.

In der Tabelle 27a - d⁺ sind die mit den einzelnen Glykosiden als Verunreinigung applizierten Aktivitäten zusammengefaßt und dazu die wiedergefundenen Aktivitäten aufgeführt. Teilweise ermöglicht dies den Schluß, ob eine zusätzliche Umwandlung des Hauptglykosides in die betreffende Verunreinigung erfolgt ist oder nicht.

⁺) befinden sich im Anhang S. 157 - 166 bzw. S. 258 - 261

Tabelle 28		Sekundärglyk.															Zuckerkette
Applizierte Glykoside		Lan. A	Lan. E	Strospesid	Lan. B	Lan. C	Glevatro.	Gllanadox.	Odorob.G	Glgitor.	Glverodox.	Gldigifuc.	D.verum	Glgitofuc.	Startfleck		
Lan. A	●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	-Dx-Dx-AcDx-Gl	
Lan. B	●	●	●	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
Lan. C	●	●			○	○	○	●	●	2					●		
Glevatro.	●	●				○	○	●	●						●		
Gllanadox.	●	●					○	○	●	●	●	●	●	●	●	-Dx-Gl	
Glgitor.	●	2	●	●	●			○	○	○	○	○	○	○	○		
Odorob.G	●	●							○	○	○	○	○	○	○	-Dls-Gl	
D.verum	●	●	●							●	●	●	○	●	●		
Gldigifuc.	●	●	●					●		●	●	●	●	●	●	-Fuc-Gl	
Glgitofuc.	●								●	●	●	●	●	○	○		

cpm	40 - 50	appliziertes Glykosid:	○
	50 - 70	Verunreinigung :	○
	70 - 100		
		G1 = Glucose	
		Dx = Digitoxose	
		AcDx = Acetyldigitoxose	
		Dls = Digitalose	

cpm
40 - 50
50 - 70
70 - 100

appliziertes Glykosid: ○
Verrureinigung : ○

Gl = Glucose
Dx = D-Glucose
AcDx = Acetyl-D-Glucose
Dls = D-Glucose

Tabelle 28 : Übersicht über das erhaltene Markierungsmuster nach Applikation der ¹⁴C-markierten Glykoside

Purpureaglykosid A (s. Tabelle 27b), das als Verunreinigung von Lanatosid B vorkommt, wurde in den betreffenden Pflanzen nicht wiedergefunden. Dafür ist die im Glucoevatromonosid gefundene Aktivität aufgeführt, in das Purpureaglykosid A möglicherweise hätte umgewandelt werden können.

Da die pc-Trennung von Glucodigitoxigeninglucomethylosid (Verunreinigung von Glucogitorosid) und Glucoverodoxin auch bei einer Laufzeit von mehr als 20 Stunden nur unvollständig gelingt, ist die in dem gemeinsamen Fleck gefundene Aktivität nur für Glucoverodoxin angegeben (s. Tabelle 27b).

Um den Überblick über die vorhandenen Meßwerte zu erleichtern ist in der Tabelle 28 eine zusammenfassende Darstellung versucht worden.

3.2.4.2. Untersuchung der Startzone

Bei der papierchromatographischen Untersuchung der isolierten Glykoside war aufgefallen, daß jedesmal ein schwach brauner Startfleck mit deutlich nachweisbarer Aktivität auftrat. Die Vermutung, es könne sich um abgespaltene Zucker handeln, - Glucose verbleibt in dem oben angegebenen Fließmittelsystem am Start - konnte nicht bestätigt werden.

Nach Elution der Startzone mit Methanol-Wasser (1+1) wurde eine DC-Trennung durchgeführt. Diese ergab mehrere Flecken (s. Abbildung 32), von denen zwei bei 365 nm stark blau fluoreszierten, während die übrigen bei 254 nm an der Fluoreszenzlöschung zu erkennen waren.

Abbildung 32 :

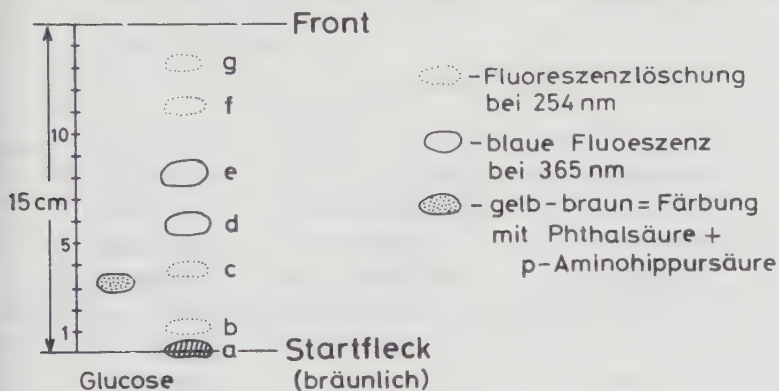
Dünnschichtchromatographische Trennung der Startzone

Schicht: Kieselgel GF₂₅₄ imprägniert mit 0,02 m Natrium-
acetatlösung

Fließmittel: Äthylacetat-Isopropanol/Wasser (2+1) (60 + 40)

Zuckernachweis: mit Phthalsäure-p-Aminohippursäure (0,6 g + 6 g
in 200 ml Äthanol) besprüht und 8 Min. auf
120° C erhitzt.

Cardenolidnachweis: mit Kedde- und Xanthydro- l-Reagenz



Die Nachweisreaktionen auf Zucker mit Phthalsäure-p-Amino-
hippursäure sowie mit Kedde-Reagenz (Cardenolide) und Xanthy-
dro- l-Reagenz (2-Desoxyzucker) verliefen negativ.

Da nach Applikation von Digitalinum verum (s. Tabelle 26a-f)
und Glucogitofucosid (s. Tabelle 24a-e) die Startzone höher

markiert erschien als bei den übrigen Pflanzen, wurden beide getrennt chromatographiert, um festzustellen, ob die Aktivität nur auf einen der Flecken beschränkt war oder ob sie über mehrere verteilt vorkam. Hierzu wurden die verschiedenen Zonen ausgekratzt, mit Szintillationslösung versetzt und im Flüssigszintillationszähler gemessen. Die Meßergebnisse gehen aus Tabelle 29 hervor.

Tabelle 29 : Verteilung der Aktivität in der Startzone

1. nach Applikation von ^{14}C -markiertem Digitalinum verum
2. " " " " Glucogitofucosid
3. " " " U^{14}C -Natriumacetat

Fleck	Startzone der mit Digitalinum verum behandelten Pflanzen (cpm)	Startzone der mit Glucogitofucosid behandelten Pflanzen (cpm)	Startzone der mit ^{14}C -Acetat behandelten Pflanzen (cpm)	
a	-	-	48100	73
b	-	-	(fehlt)	
c	29	27	8300	12
d	38	61	5700	8
e	37	32	2500	3
f	-	-	520	0
g	-	-	770	1
Nulleffekt	22			

x = %uale Verteilung der Aktivität

Aus den Werten wird deutlich, daß die Aktivität zu niedrig ist, um eine Aussage machen zu können; nur im Fleck d der mit Lucogitofucosid behandelten Pflanzen ist schwache Aktivität nachweisbar. Die Aktivitätsverteilung in der Startzone, die aus den mit ^{14}C -Acetat behandelten Pflanzen isoliert wurde, ist ebenfalls in der Tabelle 29 angegeben. Hier ist in allen Flecken hohe Aktivität feststellbar. 73 % der Gesamtaktivität sind im Startfleck (a), dagegen ist nur etwa 1 % in den Flecken und g zu finden.

4. Versuche zur quantitativen Direktauswertung von Digitalis-Extrakten

Die Bestimmung von Digitalisglykosiden durch quantitative Direktauswertung ist in den letzten Jahren von einigen Autoren beschrieben worden. Dabei werden aber vorwiegend Reinsubstanzen bestimmt, die sich dünnschichtchromatographisch gut trennen lassen. Für die Auswertung wird häufig die Fluoreszenzmessung (nach Bedampfen der Platten mit HCl) gewählt: Frijn 1970 zur Bestimmung von Digoxin, Digitoxin und Acetyldigoxin aus Injektionslösungen, Lugt ^{22,23)} 1973 und 1974 zur Bestimmung von Purpureaglykosiden aus dem Pflanzenextrakt, van Oostveen ²⁴⁾ 1976 zur Bestimmung von Digoxin aus Urin. Hammerstein und Kaiser ²⁵⁾ berichteten 1972 über die Bestimmung von Digoxin, Digitoxin und Gitoxigenindigitoxosid aus fermentierten Digitalis lanata-Extrakten, in diesem Fall wird die Detektion mit Jensens-Reagenz (s. exper. Teil 1.5.1.) durchgeführt.

Eine Direktauswertung von papierchromatographisch getrennten Digitalis purpurea-Extrakten wurde 1973 von Linley ²⁶⁾ beschrieben. Die Auswertung erfolgt hier mittels Transmissionsmessung nach Tauchen der Papierchromatogramme in Antimontrichloridlösung.

Unsere Versuche hatten das Ziel, die zeitraubende Analytik von papierchromatographisch getrennten Glykosidzonen mittels Baljet-Reaktion durch Anwendung der quantitativen Direktauswertung abzukürzen und zu verbessern. Da die Detektion mit Salzsäuredämpfen bei Papierchromatogrammen nicht durchführbar war, wurde versuchsweise mit Jensens-Reagenz besprüht

. Hammerstein und Kaiser ²⁵⁾). Die Messung ergab jedoch beachtliche Schwankungen der Fluoreszenzintensität bei gleichen Substanzmengen aus verschiedenen Chromatogrammen. Ebenso schwankte auch das Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten eines aus Reinsubstanzen hergestellten Glykosidgemisches. Es wurde daher versucht das Besprühen durch Tauchen der Chromatogramme in die Reagenzlösung zu ersetzen. Dieses Verfahren lieferte relativ gut reproduzierbare Werte und gleichzeitig höhere Fluoreszenzintensitäten.

Die ersten Versuche galten der Bestimmung der stärker polaren Diglykoside von Digitalinum verum bis Odorobiosid G (s. Abbildung 33, Ausschnitt aus einem Durchlaufchromatogramm). Die Flecken von Glucoevatromonosid und Lanatosid C, deren Rf-Werte noch über dem von Glucolanadoxin liegen, sind in dem Ausschnitt nicht mehr enthalten. Ihre Flecken sind jedoch noch länger gegeben als das beim Glucolanadoxin der Fall ist. Diese drei Glykoside lassen sich daher im Durchlaufchromatogramm nicht mehr quantitativ messen.

Tabelle 30a bis e gibt die Flächenwerte aus jeweils fünf Messungen und die zugehörigen Standardabweichungen für ein

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$$

N = Anzahl der Einzelwerte
 $\sum (x_i - \bar{x})^2$ = Summe der Quadrate der Abweichung der Einzelwerte (x_i) vom Mittelwert ($\bar{x}$)

Reinsubstanzgemisch aus Digitalinum verum (3), Glucodigifuco-
 sid (4), Glucogitorosid (6) und Odorobiosid G (7) an, ferner
 für den Extrakt und eine Mischung gleicher Teile Reinsubstanz-

Abb. 33 : Ausschnitt aus einem nach dem Tauchverfahren behandelten Papierchromatogramm, das mittels Fluoreszenzmessung direkt ausgewertet wurde.

Fließmittel: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid
(50 + 50 + 6,5) Formamidimprägnierung

Laufzeit: 20 Stunden

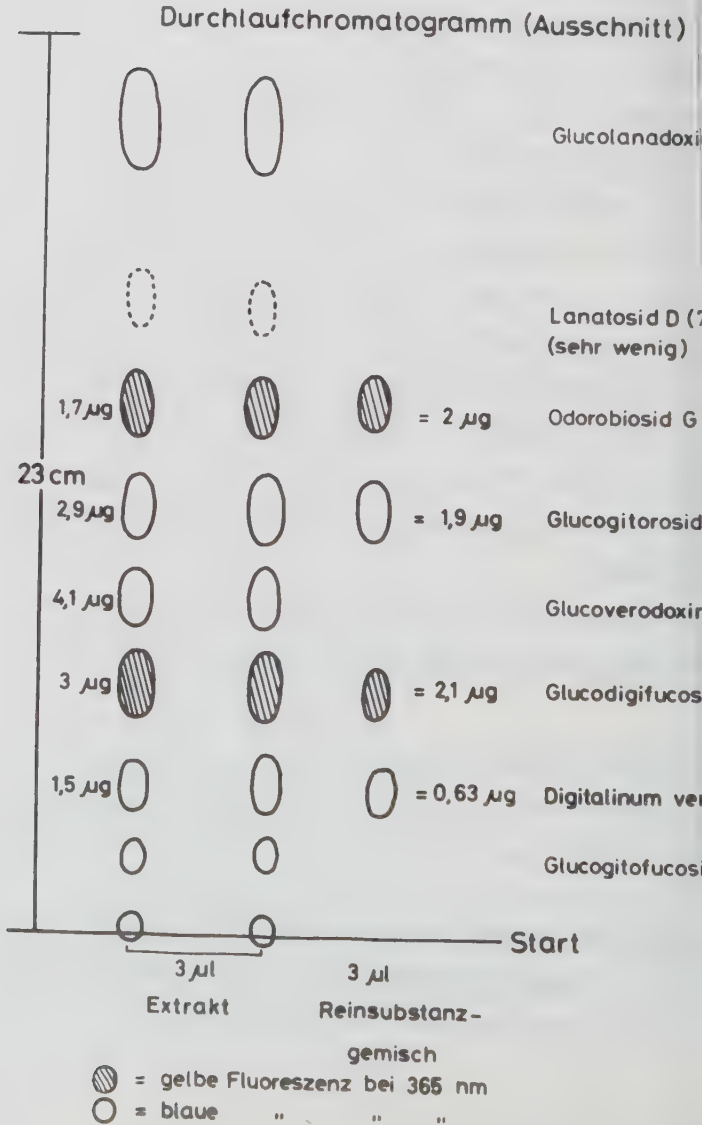


Tabelle 30a : Flächenmittelwerte aus 5 Messungen und zugehörige Standardabweichungen aus den Bestimmungsserien 1 bis 5

$\bar{x}$ = Durchschnittsflächenwert (cm^2)

s = Standardabweichung

s_{rel} = relative Standardabweichung (%)

Bestimmungsserie

1		$\bar{x}$	s	s_{rel}
<u>Reinsubstanzgemisch A</u>				
<u>2 μl</u>	Digitalinum verum = 3	4,17	0,33	7,97
	Glucodigifucosid = 4	7,26	0,31	4,34
	Glucogitorosid = 6	10,6	0,62	5,9
	Odorobiosid G = 7	5,9	0,49	8,3
<u>4 μl</u>	3	7,9	0,39	4,93
	4	12,57	0,62	4,96
	6	19	1,1	5,84
	7	10	0,8	8,03
<u>5 μl</u>	3	10,73	0,51	4,75
	4	15,16	0,55	3,67
	6	21,3	2,1	9,9
	7	12,4	0,27	2,2
<u>Drogenextrakt a</u>				
<u>2 μl</u>	3	11,75	0,58	4,96
	4	11,66	1,12	9,6
	Glucoverodoxin = 5	10,42	0,43	4,17
	6	3,8	0,21	5,5
	7	6,04	0,49	8,18
<u>Drogenextrakt a + Reinsubstanzgemisch A</u>				
<u>(2 + 2 μl)</u>	3	14,5	0,59	4,06
	4	16,76	1,2	7,16
	5	9,8	0,52	5,3
	6	11,1	0,59	5,37
	7	9,86	0,58	5,9

Tabelle 30b : Flächenmittelwerte aus 5 Messungen und zugehörige Standardabweichungen aus den Bestimmungsserien 1 bis 5

$\bar{x}$ = Durchschnittsflächenwert (cm

s = Standardabweichung

s_{rel} = relative Standardabweichung

Bestimmungsserie		$\bar{x}$	s	s_{rel}
2				
<u>Reinsubstanzgemisch A</u>				
<u>2 μl</u>	Digitalinum verum = 3	3,98	0,54	13,5
	Glucodigifucosid = 4	6,51	0,44	6,76
	Glucogitorosid = 6	8,8	0,53	6
	Odorobiosid G = 7	4,38	0,49	11,2
<u>4 μl</u>	3	7,73	0,35	4,52
	4	12,2	0,34	2,8
	6	16,8	1,56	9,3
	7	7,9	0,43	5,45
<u>5 μl</u>	3	10,57	0,73	6,9
	4	16,9	1,13	6,7
	6	23,6	1,88	7,96
	7	12,06	1,21	10
<u>Drogenextrakt a</u>				
<u>2 μl</u>	3	10,95	0,51	4,7
	4	10,67	0,67	6,3
	Glucoverodoxin = 5	9,04	0,73	8,1
	6	3,45	0,15	4,46
	7	5,35	0,39	7,38
<u>Drogenextrakt a + Reinsubstanzgemisch A</u>				
<u>(2 + 2 μl)</u>	3	14,3	0,44	3,1
	4	16,07	0,93	5,8
	5	9,38	0,43	4,56
	6	11,44	0,56	4,93
	7	9,75	0,23	2,36

Tabelle 30c : Flächenmittelwerte aus 5 Messungen und zugehörige Standardabweichungen aus den Bestimmungsserien 1 bis 5

$\bar{x}$ = Durchschnittsflächenwert (cm²)

s = Standardabweichung

s_{rel} = relative Standardabweichung (%)

Bestimmungsserie		$\bar{x}$	s	s _{rel}
3				
<u>Reinsubstanzgemisch A₁</u>				
<u>2 µl</u>	Digitalinum verum = 3	4	0,3	7,55
	Glucodigifucosid = 4	6,37	0,41	6,4
	Glucogitorosid = 6	8,47	0,4	4,74
	Odorobiosid G = 7	4,1	0,42	10,2
<u>4 µl</u>	3	9,1	0,48	5,3
	4	13,83	1,06	7,7
	6	18,8	1,71	9,1
	7	10,06	0,65	6,4
<u>5 µl</u>	3	11,07	0,16	1,48
	4	16,9	0,45	2,68
	6	24,1	1,05	4,35
	7	11,8	0,76	6,44
<u>Drogenextrakt a</u>				
<u>2 µl</u>	3	11,3	0,55	4,86
	4	10,15	0,54	5,36
	Glucoverodoxin = 5	7,8	0,41	5,25
	6	3,27	0,32	9,85
	7	5,52	0,59	10,6
<u>Drogenextrakte a + Reinsubstanzgemisch A₁</u>				
<u>(2 + 2 µl)</u>	3	15,8	1,49	9,42
	4	17,57	0,21	1,2
	5	8,65	0,88	10,2
	6	11,28	0,6	5,36
	7	10,2	0,74	7,24

Tabelle 30d : Flächenmittelwerte aus 5 Messungen
und zugehörige Standardabweichungen
aus den Bestimmungsserien 1 bis 5

$\bar{x}$ = Durchschnittsflächenwert (cm²)

s = Standardabweichung

s_{rel} = relative Standardabweichung

Bestimmungsserie		$\bar{x}$	s	s_{rel}
4				
<u>Reinsubstanzgemisch B</u>				
<u>2 μl</u>	Digitalinum verum = 3	4,04	0,15	3,7
	Glucodigifucosid = 4	6,4	0,33	5,1
	Glucogitorosid = 6	7,8	0,22	2,8
	Odorobiosid G = 7	3,84	0,37	9,7
<u>4 μl</u>	3	9,67	0,94	9,7
	4	12,75	0,74	5,8
	6	17,3	1,43	8,2
	7	8,84	0,74	8,3
<u>5 μl</u>	3	10,55	0,56	5,3
	4	14,57	1,39	9,5
	6	21,6	1,84	8,5
	7	10,45	0,83	7,9
<u>Drogenextrakt a</u>				
<u>2 μl</u>	3	12,2	0,62	5,1
	4	10,73	0,51	4,7
	Glucoverodoxin = 5	8,04	0,24	2,9
	6	3,54	0,34	9,6
	7	5,8	0,28	4,8
<u>Drogenextrakt a + Reinsubstanzgemisch B</u>				
<u>(2 + 2 μl)</u>	3	19,5	0,3	1,5
	4	16,2	0,92	5,7
	5	8,9	0,74	8,3
	6	12,05	0,77	6,3
	7	9,97	1,02	10,2

Tabelle 30e : Flächenmittelwerte aus 5 Messungen
und zugehörige Standardabweichungen
aus den Bestimmungsserien 1 bis 5

$\bar{x}$ = Durchschnittsflächenwert (cm²)
s = Standardabweichung
s_{rel} = relative Standardabweichung (%)

Bestimmungsserie

			$\bar{x}$	s	s _{rel}
	5				
<u>Leinsubstanzgemisch B₁</u>					
	3	Digitalinum verum = 3	5	0,23	4,6
	4	Glucodigifucosid = 4	7,93	0,44	5,55
<u>µl</u>	6	Glucogitorosid = 6	10,57	1,14	10,8
	7	Odorobiosid G = 7	5,4	0,6	11,2
	3		10	0,89	8,9
	4		15,26	0,4	2,62
<u>4 µl</u>	6		22,1	2,35	10,6
	7		10,7	0,62	5,8
	3		8,36	0,24	2,94
	4		11,77	0,67	5,7
<u>5 µl</u>	6		16	1,35	8,45
	7		8,6	0,74	8,6
<u>Progenextrakt b</u>					
	3		11,84	0,85	7,2
	4		12,9	0,86	6,67
	5	Glucoverodoxin = 5	14,8	1,46	9,8
	6		15,6	0,87	5,6
<u>2 µl</u>	7		4,6	0,37	8
	3		19,24	1,26	6,55
	4		18,8	0,9	4,8
	5		23,16	1,27	5,48
<u>3 µl</u>	6		25,35	1,8	7,1
	7		7,9	0,35	4,5

Abb. 34a bis e :

Darstellung der Eichgeraden der Reinsubstanzen und der ermittelten Extraktwerte.

Ordinate Flächenmittelwerte (cm^2), Abszisse: mit Baljet-Reage bestimmte Glykosidwerte (μg)

Bei deutlich von der Eichgeraden abweichenden Werten ist die Zugehörigkeit dieser Punkte zu der jeweiligen Eichgeraden durch eine gestrichelte Linie angedeutet.

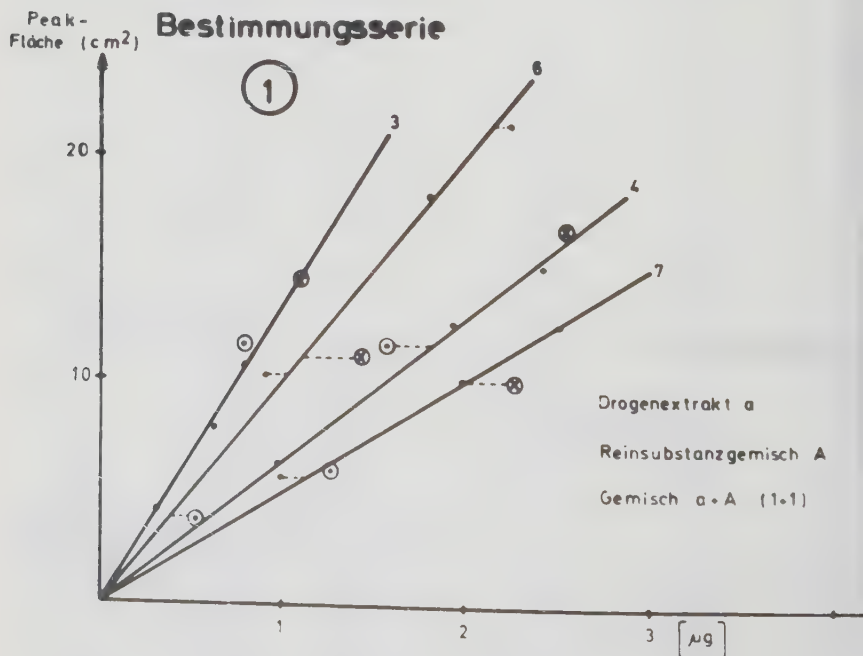
3 = Digitalinum verum

4 = Glucodigifucosid

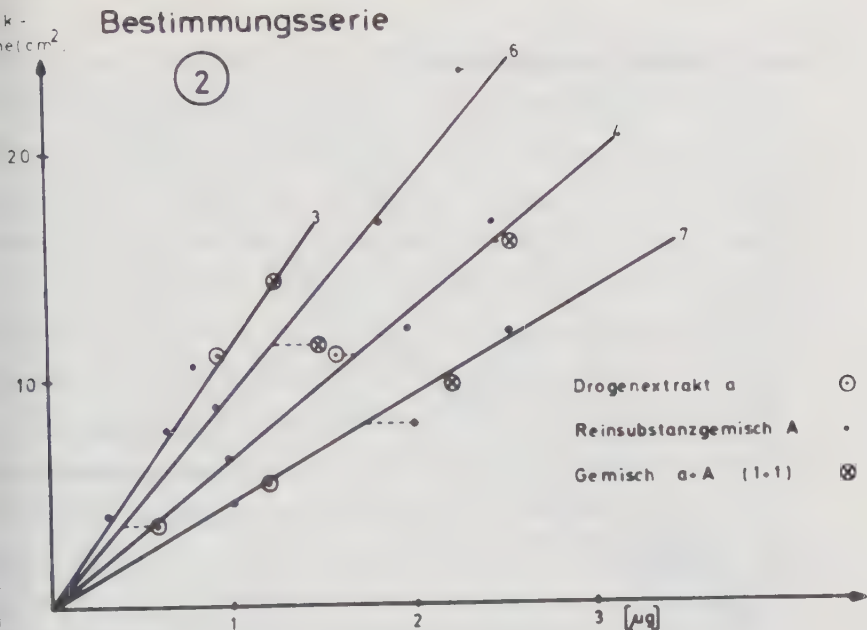
6 = Glucogitorosid

7 = Odorobiosid G

Abb. 34a



bb.34b



bb.34c

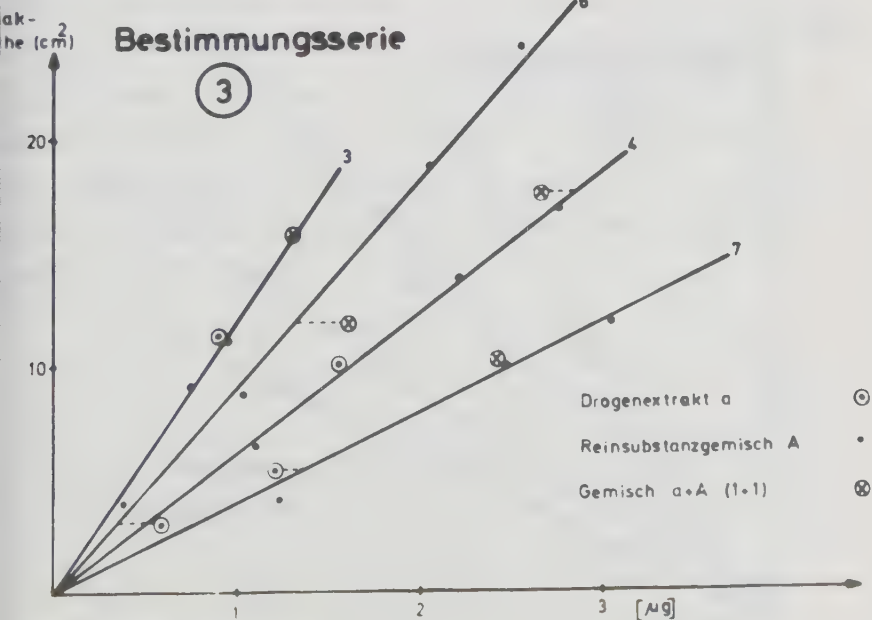


Abb.34d

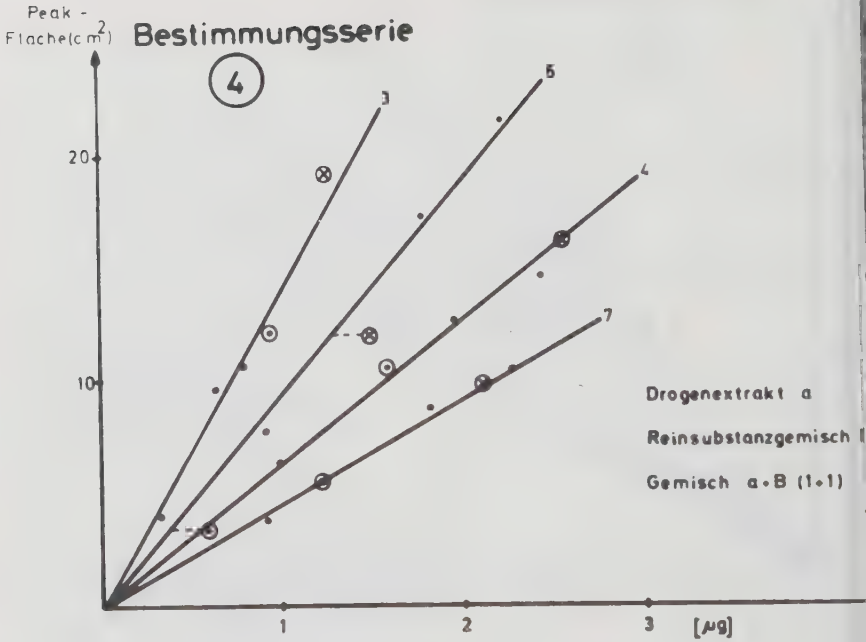
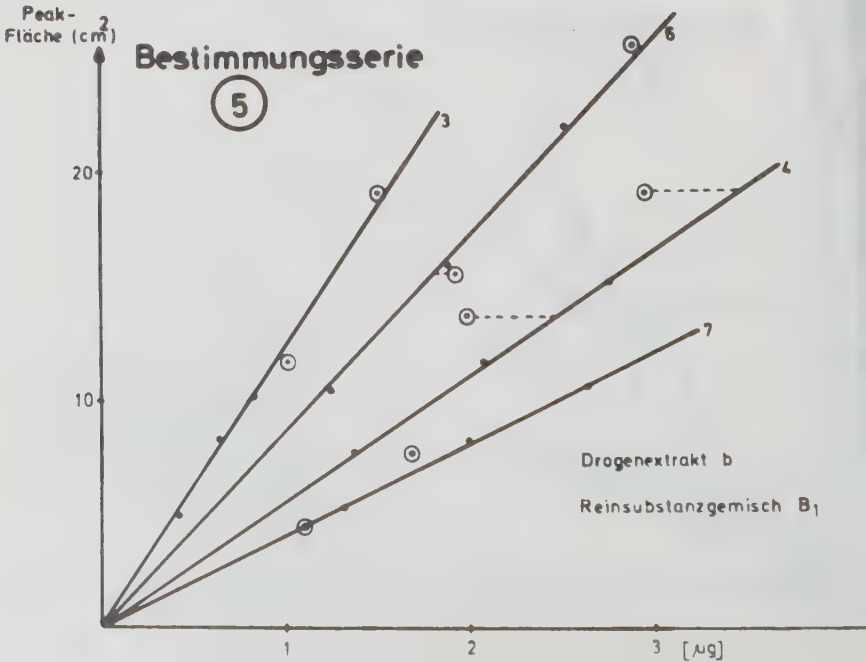


Abb.34e



misch und Extrakt. Der überwiegende Anteil der Werte der relativen Standardabweichung $s_{\text{rel}} = \frac{s}{\bar{x}}$ liegt zwischen 4 und 10 %. Zur Kontrolle der Meßergebnisse wurden gesondert sowohl Extrakt als auch die Reinsubstanzen nach papierchromatographischer Trennung mit Baljet-Reagenz bestimmt (s. exper. Teil 5.1.). Während bei der Direktauswertung die Menge pro Fleck maximal 3 µg betrug, war für die Extinktionsmessung mit Baljet-Reagenz die 20 - 50fache Menge erforderlich.

In den Abbildungen 34a bis e sind die bei der Direktauswertung erhaltenen Eichgeraden der Reinsubstanzen und die bei der jeweiligen Bestimmungsserie aus dem Extrakt erhaltenen Eichgeraden dargestellt. Dabei wurden für die Glykosidkonzentrationen die durch Baljet-Reaktion ermittelten Werte zugrunde gelegt. Die Abweichung einiger Extraktwerte von der Eichgeraden liegt wahrscheinlich in der - gegenüber der Direktauswertung - wesentlich geringeren Genauigkeit der photometrischen Auswertung begründet, bei der der Fehler etwa $\pm 10 \%$ beträgt ³¹⁾.

Zur Messung der schwächer polaren Glykoside von Glucolana- und Lanatosid A ist die vorherige papierchromatographische Trennung nicht mehr geeignet, da die Flecken zu groß und diffus werden. Hier wäre eine dünnschichtchromatographische Trennung erforderlich.

5. Diskussion der Untersuchungsergebnisse

5.1. Diskussion der Veränderungen der Glykosidzusammensetzung im Verlauf der ersten Vegetationsperiode

Die im Laufe des Untersuchungszeitraumes beobachteten Veränderungen der Glykosidzusammensetzung fordern geradezu dazu auf, Rückschlüsse auf die biosynthetischen Zusammenhänge der Glykoside untereinander zu ziehen. Geht man davon aus, daß in den Keimblättern Lanatoside noch fehlen, so liegt es nahe anzunehmen, daß die hier vorkommenden Diglykoside in irgendeiner Form als Vorstufen für die erst später auftretenden Lanatoside fungieren. Diese Theorie erhält Zuspruch durch die auffallend starke Abnahme des Gehaltes an Glucodigifucosid nach dem ersten Drittel der Vegetationsperiode und den parallel dazu verlaufenden Anstieg der Lanatoside A und C. Während der Gehalt an Lanatosid A bis zur Mitte der ersten Vegetationsperiode noch über dem von Lanatosid C liegt, steigt danach Lanatosid C weiter an, wohingegen Lanatosid A allmählich abnimmt. Dieser Wechsel des Verhältnisses zwischen Lanatosid A und C ist offenbar an ein bestimmtes Entwicklungsstadium der Blätter bzw. Blatteile gebunden. So ist zu beobachten, daß in jungen Blättern und in der Blattbasis der Lanatosid A-Gehalt höher ist, während in älteren Blättern und in der Blattspitze sich das Verhältnis zu Gunsten von Lanatosid C verändert hat. Solche Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß die Biosynthese des Lanatosid C über Lanatosid A verläuft. Entsprechende Aussagen hinsichtlich Lanatosid B sind wegen dessen geringen Anteils am Gesamtgehalt nicht möglich.

Untersuchungen von Lugt ²⁷⁾ 1976 über die Verteilung der Glykoside innerhalb der Rosette von *Digitalis purpurea* ergaben in Analogie zu den Ergebnissen bei *Digitalis lanata*, daß der höchste Gehalt an Digitoxigeninglykosiden in jungen Blättern vorkommt, während der Gehalt an Gitoxin und Gitaloxin in den ausgewachsenen Blättern am höchsten ist.

Bei dem hohen Anteil der Diglykoside am Gesamtgehalt der Blätter (s. Tabelle 5a und b), der im Durchschnitt zwischen 30 und 70 % liegt, ist anzunehmen, daß ein biosynthetischer Zusammenhang zwischen Diglykosiden und Tetraglykosiden (Lanaglykosiden) besteht.

Da sich solche Theorien aber nur durch Untersuchungen mit markierten Glykosiden bestätigen lassen, haben wir entsprechende Versuche dazu durchgeführt; sie werden in Teil 3 behandelt.

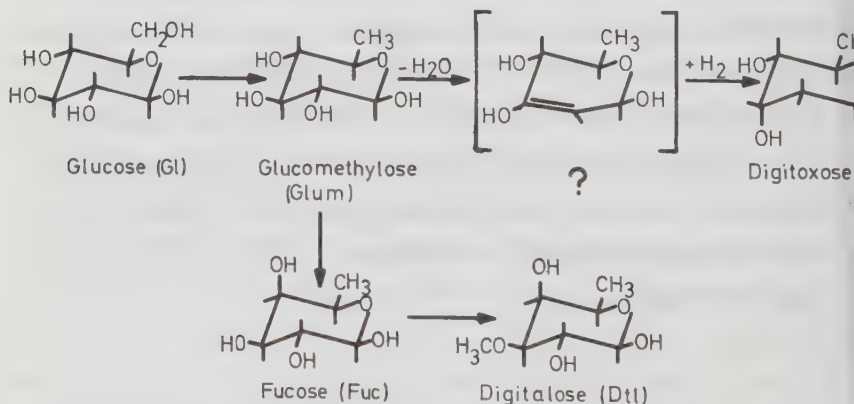
Vorgriff auf die in Abschnitt 5.2. diskutierten Ergebnisse soll hier darauf hingewiesen werden, daß die Umwandlungen der Glykoside untereinander sich weitaus komplexer darstellen, als es aus den quantitativen Veränderungen der Glykosidzusammensetzung abzuschätzen war.

5.2. Diskussion der Ergebnisse mit ^{14}C -markierten Glykosiden

5.2.1. Theoretische Überlegungen zur Umwandlung der Zuckerkette

1966 haben Untersuchungen von Reichstein und Mitarb. ²⁸⁾ ergeben, daß Digitoxose wahrscheinlich ohne Veränderung der C-Kette aus Glucose entsteht.

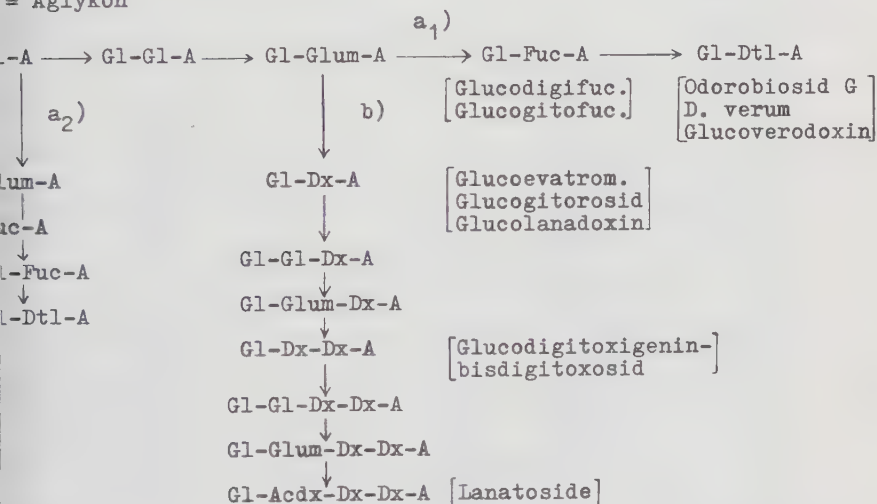
Theoretisch wäre es denkbar, daß die Bildung von Digitoxose und auch von Fucose - ausgehend von Glucose über Glucomethylose verläuft. Die Bildung von Digitoxose könnte durch Wasserabspaltung und Wasserstoffaddition bei gleichzeitiger Epimerisierung am C_3 erfolgen, wogegen zur Bildung von Fucose nur Epimerisierung am C_4 notwendig wäre:



Über diesen Weg wäre dann der Aufbau der Zuckerkette wie folgt denkbar: ausgehend vom Mono- und Diglucosid über das Glucoglucomethylosid könnte a) die Bildung der Glucofucoside - entweder unter zwischenzeitlicher Abspaltung der Glucose (a_1) oder direkt ausgehend vom Monoglucosid (a_2) - und b) der Glucodigitoxoside erfolgen. Ausgehend von den Glucodigitoxosiden

re durch weitere Anknüpfung von Glucose und Umwandlung in
gitoxose auf dem schon beschriebenen Wege die Bildung der
lanatoside möglich.

= Aglykon



Als Mono- und Diglukoside sind bisher in Digitalis lanata nur
die Gitoxigeninderivate Gitorin und Glucogitorin gefunden
worden; als Glucoglucomethylosid kommt das Digitoxigeninderivat
vor.

1.2.2. Interpretation der gemessenen Aktivitäten

In der Abbildung 35 sind die Hauptumwandlungswege der ver-
schiedenen Glykoside aufgezeichnet. In Analogie zu den theo-
retischen Überlegungen zum Umbau der Zuckerkette sind die
Zuckeranteile in einer entsprechenden Reihenfolge aufgeführt.

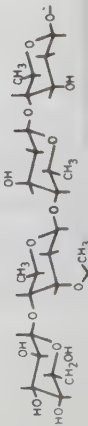
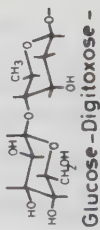
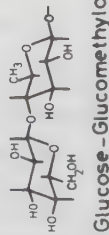
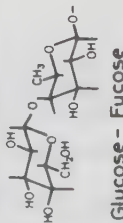
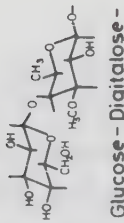
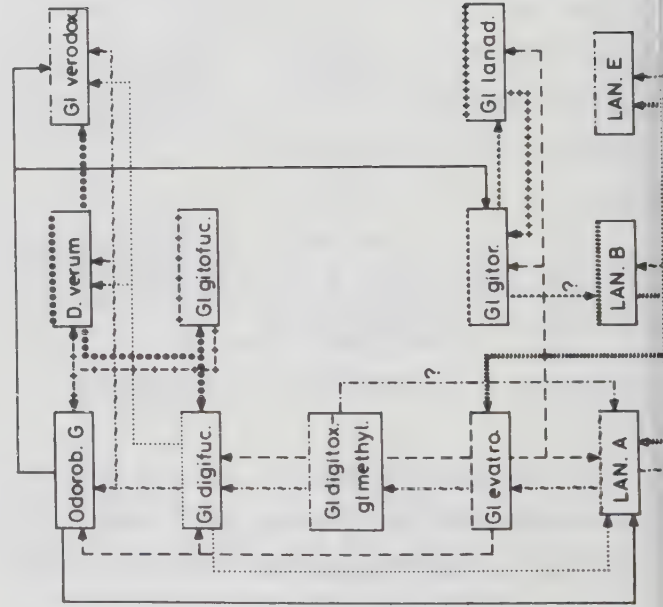
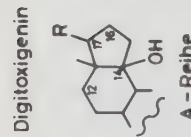
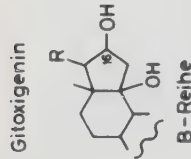
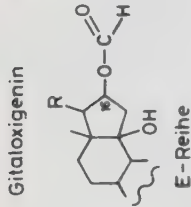
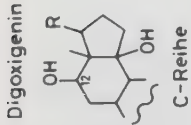
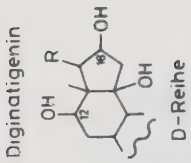


Abb. 35 : Übersicht der Hauptumwandlungswege,
die sich nach Applikation von ^{14}C -mar-
kierten Glykosiden abzeichneten.

2.2.1. Bildung und Umwandlung der Lanatoside

Die Bildung von Lanatosid A scheint vorwiegend direkt aus den Diglykosiden der Digitoxigeninreihe zu erfolgen. Nach Untersuchungen von Odorobiosid G, Glucodigifucosid, Glucoevatromonosid und wahrscheinlich auch Glucodigitoxigeninglucomethyl- und -glucosid, das mit relativ hoher Aktivität als Verunreinigung in Glucoevatromonosid vorkommt (s. Tabelle 15), erscheint Lanatosid A nicht markiert. Die Zählraten sind beim Odorobiosid G besonders niedrig, da der Syntheseweg von Digitalose zur Digitoxose vermutlich relativ lang ist. Dagegen sind die Zählraten bei Glucodigifucosid und Glucoevatromonosid erwartungsgemäß etwas höher, bei Glucodigitoxigeninglucomethyl- und -glucosid wurden bei einer Pflanze sogar über 100 cpm gemessen. Die Abhängigkeit der Umwandlungsrate von der Zeit läßt sich aus den vorliegenden Ergebnissen nicht feststellen, was auch für die Zählraten der übrigen Glykoside gilt. Der relativ hohe Lanatosid A-Gehalt von *Digitalis lanata*-Pflanzen während der ersten Vegetationsperiode (s. Teil 2) ist daher wahrscheinlich als Ergebnis der Umwandlung mehrerer Diglykoside der Digitoxigeninreihe anzusehen. Die übrigen Lanatoside erscheinen nach Applikation der verschiedenen Diglykoside nicht oder kaum markiert. Das deutet darauf hin, daß die Bildung der Lanatoside B, C, E (D) vorwiegend über Lanatosid A verläuft. In geringem Maße ist auch Lanatosid B beteiligt, das sowohl aus Lanatosid A und E als auch in Lanatosid C übergehen kann. Lanatosid C wird ebenfalls aus Lanatosid A gebildet, wobei die Zählraten im Jahr 1975 deutlich höher waren als im Jahr 1976.

Nánási und Mitarb. haben 1974 markierte Lanatoside und Genin an *Digitalis lanata*-Pflanzen appliziert ¹⁶⁾ und sind dabei ebenfalls zu dem Ergebnis gekommen, daß Lanatosid A eine entscheidende Rolle bei der Biosynthese der übrigen Lanatoside spielt.

Lanatosid A wird aber nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen nicht nur in die übrigen Lanatoside umgewandelt, sondern auch wieder zu Diglykosiden abgebaut. Hierbei überwiegen die Digitoxigeninglykoside Glucoevatromonosid und Glucodigifucosid, es sind jedoch alle übrigen Diglykoside ebenfalls mehr oder weniger deutlich markiert (s. auch Tabelle 28), was u.a. wohl auch auf Sekundärumwandlungen (weiterer Umbau der direkt aus Lanatosid A entstandenen Diglykoside) zurückzuführen ist. Die Umwandlungsprodukte von Lanatosid B sind dagegen weniger zahlreich. Von den Diglykosiden findet sich hauptsächlich - allerdings relativ hoch - Glucoevatromonosid markiert. Bei Lanatosid C wurden wie auch im Jahr 1975 Aktivität in Glucogitorosid und wenig in Glucolanadoxin nachgewiesen. Dieses Ergebnis muß jedoch unter Vorbehalt betrachtet werden, da sich im Chromatogramm die Flecken von Glucogitorosid und Desacetyl lanatosid C überlappen. Desacetyl lanatosid C konnte zwar in Drogen nie nachgewiesen werden, käufliches Lanatosid C enthält jedoch häufiger Desacetyl lanatosid C als Verunreinigung, was vermutlich durch die Art der Aufarbeitung bedingt ist.

Diese Ergebnisse machen deutlich, daß die Lanatoside keine Stoffwechselendprodukte darstellen (mit Ausnahme eventuell von Lanatosid C und D), sondern daß Aufbau und Abbau in einem

gleichgewicht stehen, das sich allerdings in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium der Pflanze in die eine oder andere Richtung verschieben kann.

2.2.2. Umwandlung der Digitoxose enthaltenden Diglykoside

(Der Umbau zu den Lanatosiden soll hier nicht berücksichtigt werden)

Zu den Glucodigitoxosiden gehören Glucoevatromonosid (A-Reihe), Glucogitorosid (B-Reihe) und Glucolanadoxin (C-Reihe).

Glucoevatromonosid wird erwartungsgemäß in die beiden anderen Glucodigitoxoside durch Hydroxylierung bzw. zusätzliche Formylierung an C₁₆ überführt. Außerdem erfolgt aber noch eine Umwandlung in Glucodigifucosid und Odorobiosid G, das allerdings nur bei zwei Pflanzen außerordentlich hoch markiert erscheint. Das würde bedeuten, daß der oben postulierte Bildungsweg der Digitoxose aus Glucomethylose reversibel ist und Glucomethylose von da weiter zu Fucose (und Digitalose) umgebaut wird.

Glucogitorosid wird durch Formylierung in Glucolanadoxin umgewandelt (s. auch Versuch 75). Eine Entscheidung darüber, ob auch analog zu Glucoevatromonosid eine Umwandlung in Glucoverodoxin (Digitalose) erfolgt, läßt sich nicht eindeutig treffen, da die Flecken von Glucodigitoxigeninglucomethylosid (Verunreinigung) und Glucoverodoxin nur schlecht getrennt werden können. Die Ergebnisse des Jahres 1975 deuten bei Glucogitorosid allerdings auf eine solche Umwandlung hin.

Aus Glucolanadoxin wird zu einem beträchtlichen Anteil Glucogitorosid gebildet und in geringem Maße Glucoverodoxin. Der Umstand, daß außerdem bei einigen Pflanzen Purpureaglykosid B auftritt, das verhältnismäßig hoch markiert erscheint, läßt sich nicht erklären, zumal dieses Glykosid in *Digitalis lanata* gewöhnlich nur in Spuren vorkommt.

5.2.2.3. Umwandlung der Fucose und Digitalose enthaltenden Diglykoside

Bei dieser Gruppe fällt auf, daß eine Überführung in Digtosose-haltige Glykoside (abgesehen von niedrigen Markierungen bei Lanatosid A und z.T. bei Glucogitorosid) praktisch kaum stattfindet. Während Glucoevatromonosid (Gl-Dx-A) zumindest bei einigen Pflanzen deutlich in Odorobiosid G (Gl-Dtl-A) umgewandelt wird (s. Abbildung 15), läßt sich der umgekehrte Weg vom Odorobiosid G zum Glucoevatromonosid nicht nachweisen. Wider Erwarten wird Odorobiosid G auch kaum in Digitalinum verum (Gl-Dtl-B) umgewandelt, obwohl hierzu nur eine 16-Hydroxylierung des Aglykons notwendig wäre. Der entgegengesetzte Weg ist aber auch bei Digitalinum verum nicht nachzuweisen. Es ist auffallend, daß die Zählrate des applizierten Odorobiosid G (400 - 1000 cpm) im Verhältnis zu denen der Umwandlungsprodukte Glucogitorosid und Glucoverodoxin (s. Abbildung 20) verhältnismäßig sehr hoch ist. Diese Beobachtungen legen den Schluß nahe, daß Odorobiosid G ein Glykosid darstellt, das nur sehr begrenzt in Umwandlungsprozesse einbezogen wird (s. quantitative Untersuchungen Teil 2).

Die Veränderungen von Digitalinum verum und Glucodigifucosid sind dagegen durchaus einleuchtend und zeigen an, daß eine Umwandlung von Fucose in Digitalose und zurück leicht möglich ist. Glucodigifucosid (Gl-Fuc-A) wird sowohl in Digitalinum verum (Gl-Dtl-B) als auch in Glucoverodoxin (Gl-Dtl-E) und in geringem Maße in Glucogitofucosid (Gl-Fuc-B) überführt. Aus Abbildung 18 geht hervor, daß diese Ergebnisse gut mit denen des Vorjahr übereinstimmen.

Bei Digitalinum verum, das beim Versuch 76 relativ stark mit Glucodigifucosid verunreinigt war, ist aus den Ergebnissen des Jahres 1975 eindeutig zu entnehmen, daß eine deutliche Umwandlung in Glucodigifucosid, Glucoverodoxin und Glucogitofucosid erfolgt.

Glucogitofucosid (Gl-Fuc-B) wird hauptsächlich in Digitalinum verum und - nachweisbar bei nur zwei Pflanzen - in Odorobiosid G (Gl-Dtl-A) überführt. Wie schon bei Odorobiosid G und Digitalinum verum überrascht es auch hier, daß der Weg vom Glucogitofucosid (Gl-Fuc-B) zum Glucodigifucosid (Gl-Fuc-A) und zurück nicht oder kaum beschritten wird. Dies könnte bedeuten, daß die Hydroxylierung bzw. Abspaltung der OH-Gruppe an C₁₆ mit der Umwandlung des Zuckers gekoppelt ist (s. Abschnitt 2.2.4.).

5.2.2.4. 12 β bzw. 16 β -Hydroxylierung

Aus Untersuchungen von Tschesche und Mitarb.^{12,13}) 1968 und 1970 geht hervor, daß die Einführung der 14 β -OH-Gruppe bereits auf der Progesteron- bzw. Pregnanstufe erfolgt. Ähnliches ist über die 16 β -Hydroxylierung bekannt, wogegen die Hydroxylierung an C₁₂ vornehmlich auf der Cardenolidstufe erfolgt. Welche Umwandlungen finden nun aber am Aglykon statt, wenn es glykosidiert ist ?

Auf der Lanatosidstufe scheinen beide Reaktionen - ausgehend von Lanatosid A die 12 β - und 16 β -Hydroxylierung, von Lanatosid B die Abspaltung der 16 β -OH-Gruppe und die Hydroxylierung an C₁₂ - relativ leicht abzulaufen. Anders verhält es sich bei den Diglykosiden. Die 12 β -Hydroxylierung spielt hier kaum eine Rolle, Glucodigoxigenindigitoxosid ist bekannt, kommt aber nur in Spuren in Digitalis lanata vor. Bei den Glucodigitoxosiden führt die 16 β -Hydroxylierung von Glucoevatomonosid zum Glucogitorosid, der umgekehrte Weg (analog zur Umwandlung von Lanatosid B) läßt sich aber nicht nachweisen. Vom Glucoglucomethylosid kommt lediglich das Digttoxigeninderivat vor, Vertreter der B- und C-Reihe sind nicht bekannt. Die Digitalose bzw. Fucose-enthaltenden Diglykoside, von denen noch keine Digoxigeninderivate gefunden wurden, unterliegen dagegen nur einer Hydroxylierung an C₁₆ bzw. Abspaltung dieser OH-Gruppe, wenn gleichzeitig eine Umwandlung der Fucose in Digitalose oder umgekehrt erfolgt (s. Abschnitt 5.2.2.3.).

Diese Befunde lassen sich so deuten, daß die 16 β -Hydroxylierung in Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Zuckerkette von verschiedenen Enzymen durchgeführt wird. Auf der Lanatosid- und Glucodigitoxosidstufe (Lanatosid A, Glucoevatromonosid) könnte die 16 β -Hydroxylierung mit Hilfe desselben Enzyms ablaufen. Dies wäre auch für die 12 β -Hydroxylierung denkbar und würde somit das Vorkommen sehr geringer Mengen Glucodigoxigenindigitoxosid erklären.

Demgegenüber könnte für die Einführung der 16 β -OH-Gruppe sowie deren Abspaltung bei den Fucose- bzw. Digitalose-enthaltenden Glykosiden ein Enzymkomplex verantwortlich sein, der zur Methylierung bzw. Demethylierung des Zuckers und gleichzeitig zur 16 β -Hydroxylierung bzw. Abspaltung dieser OH-Gruppe befähigt ist.

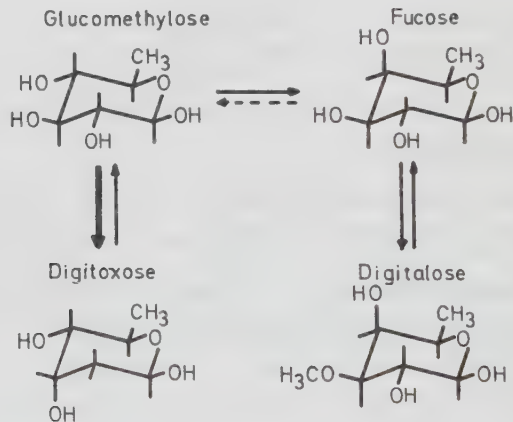
Die Ergebnisse lassen vermuten, daß ein entsprechendes Enzym für Odorobiosid G, das zur Demethylierung und 16 β -Hydroxylierung befähigt ist, fehlt. Andernfalls müßte Glucodigitofucosid als Umwandlungsprodukt auftreten.

5.2.2.5. Zusammenfassung der diskutierten Umwandlungsmöglichkeiten

Hierbei sind folgende Punkte besonders hervorzuheben:

- 1) Aufbau von Lanatosid A aus mehreren Diglykosiden, vorwiegend aus Glucoevatromonosid, Glucodigifucosid, wahrscheinlich auch aus Glucodigitoxigeninglucomethylosid.

- 2) Die übergeordnete Rolle von Lanatosid A bei der Bildung der übrigen Lanatoside.
- 3) Die Lanatoside (eventuell mit Ausnahme von Lanatosid C und D) stellen keine Stoffwechselendprodukte dar.
- 4) Der Bildungsweg von Glucomethylose zu Digitoxose ist wahrscheinlich reversibel.
- 5) Die Umwandlung von Fucose zu Digitalose erfolgt schnell und ist reversibel, Fucose scheint nur sehr langsam in Glucomethylose und damit in Digitoxose verwandelt zu werden.



- 6) Möglicherweise wird die 16 β -Hydroxylierung in Abhängigkeit vom Aufbau der Zuckerkette von verschiedenen Enzymen durchgeführt. Während die 16 β -Hydroxylierung auf der Lanatosidstufe und Glucodigitoxosidstufe vermutlich von demselben Enzym katalysiert wird, läuft die 16 β -Hydroxylierung auf der Glucofucosid- bzw. Glucodigitalosidstufe wahrscheinlich mit Hilfe anderer Enzyme ab. Diese könne

unter Umständen eine Doppelfunktion haben: Umwandlung von
ucose in Digitalose und umgekehrt und daneben 16 β -Hydroxy-
ierung bzw. Abspaltung dieser OH-Gruppe.



Experimenteller Teil



6. Experimenteller Teil

6.1. Experimentelle Durchführung der Untersuchungen über die quantitativen Veränderungen der Glykosidzusammensetzung

6.1.1. Herkunft und Anbau der untersuchten Pflanzen

Das Saatgut stammte aus dem Garten des Pharmakognostischen Instituts der Universität Wien, gewonnen aus Lanatosid C-reichen Stämmen.

Die Aussaat und Anzucht erfolgte in den Gewächshäusern des Botanischen Gartens der Philipps-Universität Marburg. Nach der Aussaat - Mitte März - wurden die Pflanzen während der gesamten ersten Vegetationsperiode im Gewächshaus belassen. In den Herbst- und Wintermonaten wurde die Temperatur bei 10 bis 15° C gehalten. Zur Schädlingsbekämpfung kamen Metasystox[®], PD₅[®] und Orthocit[®] zum Einsatz. Blätter und Blüten von *Digitalis purpurea* wurden in der näheren Umgebung von Marburg gesammelt.

6.1.2. Ernte und Trocknung

Ernten wurden von April bis in den Winter hinein in regelmäßigen Abständen durchgeführt und untere (= alte), mittlere und obere (= junge) Blätter getrennt geerntet. Dabei wurden Stichprobenweise 1 bis 3 von jeder Sorte (je nach Blattgröße) von 20 bis 30 Pflanzen genommen. Die Trocknung erfolgte wenn nicht anders angegeben bei Raumtemperatur. Dieser Vorgang

dauerte etwa zwei Wochen. Anschließend ließen wir die Blätter noch einige Tage im Exsiccator nachtrocknen. Fuchs und Mitarb. ²⁹⁾ empfehlen nach Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Trocknungstemperaturen auf den Glykosidgehalt die Trocknung bei Raumtemperatur durchzuführen. Andernfalls sollte die Temperatur von 40° C nicht überschritten werden.

6.1.3. Herstellung des Glykosidextraktes

Für die Extraktion und chromatographische Trennung wurde die von Wichtl 1971 in "Die Pharmakognostisch-Chemische Analyse" gegebene Vorschrift ³⁰⁾ teilweise modifiziert.

3,00 g feingepulverte Droge wurden in einem tarierten Rundkolben mit 30,0 g heißem 70%igem Äthanol übergossen und 15 Minuten unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Droge durch ein Faltenfilter abfiltriert, der Rückstand mehrmals mit Wasser nachgewaschen, ausgepreßt und das Filtrat schließlich mit Wasser auf 100 g aufgefüllt. Die Reinigung erfolgte mit 20 g 15%iger Bleiacetatlösung. Nach dem Durchmischen wurde der Niederschlag abzentrifugiert, die klare überstehende Flüssigkeit in einen tarierten Erlenmeyerkolben gegossen und das Gewicht festgestellt. Zur Entfernung des Bleiacetatüberschusses versetzte man mit 25 g 10%iger Lösung von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ und zentrifugierte nach erneutem Durchmischen den Niederschlag ab. Das überstehende Filtrat wurde erneut gewogen und anschließend mit Chloroform-Isopropanol (3+2) ausgeschüttelt (einmal 60 ml, dreimal je 35 ml), sodann die ver-

inigten Chloroform-Isopropanol-Auszüge unter vermindertem
ruck bei 40° C zur Trockne eingedampft. Den Rückstand über-
führte man darauf mit Methanol in einen 50 ml Meßkolben und
füllte auf 50,00 ml auf (Stammlösung A, entspricht meist etwa
0,5 g Droge). Für die Bestimmung des Gesamtgehaltes wurden
5,00 ml der Stammlösung A in einen 25 ml Meßkolben gegeben
und mit Methanol auf 25,00 ml verdünnt. Davon wurden 5,00 ml
entnommen, mit der gleichen Menge Baljet-Reagenz versetzt und
wie in Abschnitt 1.5. beschrieben gemessen.

1.4. PC - Trennung

Die papierchromatographische Trennung erfolgte auf Schleier
und Schüll Papier 2043 b Mgl.

Chromatogrammformat: 18 · 60 cm

Einteilung in 5 Bahnen zu je 3,6 cm Breite

Startlinie 11 cm vom Rand entfernt

Für Durchlaufchromatogramme schnitt man die untere Kante
mit einer Zackenschere ab, um ein besseres Abtropfen zu er-
zöglichen. Das Format der verwendeten PC-Kammern ist in Abbil-
dung 36 dargestellt.

Zur Herstellung von Chromatogrammen wurden 10,00 ml der
Stammlösung A in einem Spitzkolben zur Trockne eingedampft.
Der Rückstand wurde mit wenig Chloroform-Methanol (1+1) unter
ehrmaligem Nachspülen in ein 5 ml Spitzkölbchen überführt,
erneut eingedampft und in 100 µl Chloroform-Methanol (1+1)
= Stammlösung B) aufgenommen.

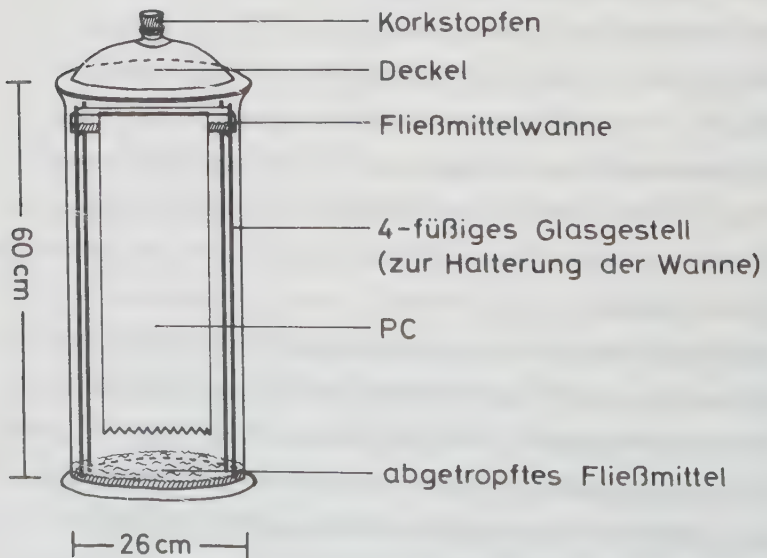
Die Imprägnierung des Papiers erfolgte mit Aceton-Formamid (4+1) in einem 100 ml Meßzylinder, in dem man das zusammengerollte Chromatographiepapier etwa 8 bis 10 Minuten aufbewahrte. Danach wurde zwischen Filterpapier abgepreßt; pro Bahn wurden zunächst 10 µl Aceton-Formamid (4+1) als zusätzliche Imprägnierung und anschließend 10 µl der Stammlösung B (10 µl-Pipette) aufgetragen, wobei die Randbahn für den Leerwert frei blieb.

Chromatographiedauer: 5 bzw. 18 Stunden absteigend (s. Abb. 11)

Fließmittel: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid (50 + 50 + 6)

Trocknung: eine Stunde bei 120° C im Abzug (Formamiddämpfe !)

Abbildung 36 : Papierchromatographie - Kammer



1.5. Quantitative Bestimmung

1.5.1. Detektion und spektralphotometrische Auswertung

Vor dem Abschneiden zweier Bahnen für die Detektion mit Jensens-Reagenz wurden im UV bei 365 nm die fluoreszierenden Flecken der Begleitstoffe markiert (s. Abbildung 37, exper. Teil 2.3.), um festzustellen, ob alle Bahnen gerade gelaufen sind - auf der Randbahn sind die Flecken ab und zu etwas verzogen - oder eine Bahn für die quantitative Auswertung nicht geeignet ist. Nach dem Besprühen mit Jensens-Reagenz (meist 2 Bahnen) und Erhitzen von 3 bis 4 Minuten auf 120° C waren die Glykoside als gelbe und unterschiedlich blau fluoreszierende Flecken bei 365 nm sichtbar (s. Abbildung 11 und 37).

Jensens-Reagenz: 25%ige Lösung von Trichloressigsäure in Äthanol	15 Vol.Tl.
3%ige Lösung von Chloramin T in Wasser	1 Vol.Tl.

Das Reagenz ist nur etwa eine Stunde haltbar, mit älteren Lösungen fällt die Reaktion der Digitoxigeninglykoside und des Lanatosid C (gelbe bzw. graublaue Fluoreszenz) wesentlich schwächer aus. Die Trichloressigsäurelösung kann vorrätig gehalten werden, die Chloraminlösung ist dagegen jedesmal frisch anzusetzen. Für zwei Chromatogrammbahnen sind zum Besprühen etwa 30 ml Reagenz notwendig.

Mit Hilfe der besprühten Chromatogramme wurden die Flecken auf den nicht besprühten Bahnen markiert und anschließend zur quantitativen Bestimmung benutzt. Die entsprechenden Zonen schnitt man in etwa 0,25 cm² große Stückchen und eluierte

sie 2 Stunden in Schliffreagenzgläsern unter häufigem Schütteln mit je 3,00 ml Methanol. Danach wurden 3,00 ml Baljet-Reagenz (95 ml 1%ige Pikrinsäurelösung + 5 ml 10%ige Natronlauge) zugesetzt und nach 20 Minuten die Extinktion der Lösung bei 494 nm gemessen (Zeiss Spektralphotometer PM QII).

Zur Herstellung des Leerwertes diente eine entsprechende Papiermenge aus der freigelassenen Randbahn. Glykoside mit deutlich verschiedener Fleckgröße wurden gegen die jeweils passenden Leerwerte gemessen (vgl. Fleckgrößen von Lanatosid A und Digitalinum verum Abbildung 11).

Um grobe Fehler auszuschalten, wurden für jedes Glykosid drei Werte von drei verschiedenen Bahnen gemessen. Aus der folgenden Formel ergibt sich der Glykosidgehalt pro Fleck ($\hat{=}$ 10 μ l Stammlösung B):

$$\mu\text{g Glykosid} = E_{(1 \text{ cm})} \cdot f$$

$E = \text{Extinktion (d = 1 cm)}$
 $f = \text{Umrechnungsfaktor}$

In der Tabelle 31 sind die benutzten Umrechnungsfaktoren für jedes quantitativ bestimmte Glykosid angegeben. Diese sind z.T. von Fuchs und Mitarb.³¹⁾ bestimmt worden und in einer Arbeit über die quantitative papierchromatographische Bestimmung bei Digitalis (1958) angegeben⁴⁾. Sämtliche Umrechnungsfaktoren der Diglykoside wurden unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Molekulargewichte auf Digitalinum verum berechnet. Der Wert für Lanatosid E ist mit dem Faktor von Lanatosid B errechnet worden.

Abelle 31 : Umrechnungsfaktoren für die quantitativ bestimmten Glykoside aus *Digitalis lanata* und *purpurea*

Glykosid	Umrechnungsfaktor (f) für 6 ml Farblösung (3 ml Methanol + 3 ml Baljet)
Lanatosid A	+) 363
Lanatosid B	+) 412,5
Purpureaglykosid A	+) 348
Glucogitaloxin	+) 406,5
Purpureaglykosid B	+) 394,5
Strospesid	+) 240
Verodoxin	+) 252
Lanatosid C	+) 408
Lanatosid E	418,5
Digitalinum verum	+) 310,5
Glucocovatromonosid	290,4
Glucolanadoxin	309,5
Odorobiosid G	303,4
Glucogitorosid	297
Glucoverodoxin	322
Glucodigifucosid	297
Glucogitofucosid	304,3

+) angegeben von Fuchs und Mitarb. ³¹⁾

Für das Überlassen von Vergleichssubstanzen sind wir Herrn Dr. F. Kaiser (Fa. C.F. Boehringer Mannheim) sowie der Fa. Sandoz AG Basel zu besonderem Dank verpflichtet.

Lanatosid A, B und C,

Purpureaglykosid A und B,

Glucodigitoxigeninbisdigitoxosid, Strospesid,

Glucocovatromonosid, Glucolanadoxin, Odorobiosid G und Neo-Verbi

Glucogitorosid, Glucoverodoxin,

Glucodigitoxigeninglucomethylosid,

Glucodigifucosid und Neo-Verbindung, Digitalinum verum
(Fa. C.F. Boehringer Mannheim)

Lanatosid D und E, Desacetyllanatosid C,

Digoxin, Acetyldigoxin (Fa. Sandoz AG Basel)

1.5.2. Versuche zur Direktauswertung von Papier- chromatogrammen

Für die Bereitung der Extraktverdünnungen löste man den Extraktückstand von 3 g Droge in 50,00 ml Methanol. Für jeweils fünf Auftragepunkte wurden davon 2,00 ml zur Trockne eingedampft und in 0,20 ml Chloroform + Methanol (1+1) aufgenommen.

Zur Trennung der stark polaren Diglykoside dienten Papierchromatogramme mit je fünf Bahnen (s. exper. Teil 1.4.), auf die abwechselnd Drogenextrakt und ein Reinsubstanzgemisch - bestehend aus Digitalinum verum, Glucodigifucosid, Glucositorosid und Odorobiosid G - punktförmig aufgetragen wurden. Zum Auftragen verwendeten wir eine 10 µl-Hamiltonspritze (701 N). Die pro Glykosid aufgetragene Substanzmenge lag zwischen 0,5 und 3 µg (entsprechend 2 und 5 µl), wegen der geringen Auftragemengen unterblieb die zusätzliche Imprägnierung der Bahnen mit 10 µl Aceton-Formamid. Zu jeder Bestimmungsserie wurden soviel Chromatogramme angefertigt, daß jede Konzentration fünfmal aufgetragen werden konnte. Die Laufzeit betrug 20 Stunden.

Nach dem Trocknen wurden die Chromatogramme durch 200 ml Tensens-Reagenz gezogen, das sich in einer 5 cm hohen Glaswanne befand und - um ein Verlaufen der Flecken auf dem nassen Papier zu verhindern - die Papierstreifen im Trockenschrank waagerecht eingespannt (120° C, 4 Min.). Die Fluoreszenzmessung erfolgte mit einem Schoeffel Densitometer SD 3000, das mit einer Halterung für Papierchromatogramme versehen war.

Anregungswellenlänge: 355 nm Emissionswellenlänge: 500 nm
Die Flächenwerte wurden über die Auswertung von Höhe · Halbwertsbreite ermittelt.

6.2. Experimentelle Durchführung der Versuche mit
 ^{14}C -markierten Glykosiden

6.2.1. Applikation von ^{14}C -Acetat bzw. isolierten
 ^{14}C -markierten Glykosiden

An etwa 15 Wochen alte Digitalis lanata-Pflanzen (Aussaat Anfang März) wurde vom 15. - 19.6.76 bzw. 18. - 20.6.75 ^{14}C -markiertes Natriumacetat appliziert. Für den Vorversuch erfolgte die Applikation bereits am 24.5.76. In der Tabelle 32 sind die zugehörigen Daten zusammengefaßt.

Tabelle 32 : Zusammenstellung der eingesetzten Aktivitäten bzw. Mengen an ^{14}C -markiertem Natriumacetat bei den Markierungsversuchen der Jahre 1975 und 1976

	^{14}C -Na-Acetat applizierte Aktivität (mC)	Substanz- menge (mg)	gelöst in x ml	Anzahl der behandelten Pflanzen
Versuch 75	0,5 ($2\text{-}^{14}\text{C}$)	4,1	4	73
Versuch 76	3 } ($\text{U-}^{14}\text{C}$)	10,8	6	122
Vorversuch 76				
	0,5	1,8	1	21

Die Substanzen wurden vom Radiochemical Centre Amersham bezogen

Sowohl Acetat als auch die Glykoside wurden mittels Injektion in die Pflanze eingebracht. Diese Methode ist von Ramstad und Beal ³²⁾ 1960 erwähnt, aber nicht genauer beschrieben. Wir injizierten das in Wasser gelöste Natriumacetat mit einer 10 µl

sendenden Hamilton-Spritze (701N) von der Blattoberseite her den relativ kräftigen Mittelnerv. Pro Injektion konnten 5 µl eingebracht werden, bei größeren Volumina bestand die Gefahr, daß ein Teil der Lösung durch den Turgordruck wieder herausgepreßt wurde. Wir injizierten pro Pflanze 40 - 60 µl (je nach Größe), pro Blatt wurden meist zwei Injektionen vorgenommen. Auf diese Weise erforderte die Behandlung einer Pflanze durchschnittlich 15 Minuten. Während die Injektion in wäßriger Acetatlösung von den Pflanzen ohne sichtbaren Schaden vertragen wurde, erwies sich die Applikation der Glycoside als problematisch. Die isolierten ^{14}C -markierten Glycoside mußten in methanolischer Lösung verabreicht werden. Dies hatte zur Folge, daß das Gewebe einige Millimeter um die Einstichstelle herum abstarb. Durch vorherige Injektion mit gleicher Menge Wasser konnte dieser Vorgang um etwa 10 - 15 Minuten hinausgezögert werden. In Tabelle 16 sind die pro Pflanze applizierte Glykosidmenge und die Konzentration der Glykosidlösungen angegeben. Nach dieser Behandlung, währenddessen die Schädigung der Blätter nicht weiter fortschritt, entwickelten sich die Pflanzen im Wachstum normal weiter.

2.2. Ernte und Extraktion der mit ^{14}C -Acetat behandelten Pflanzen

Die Ernte erfolgte nach zwei Wochen (30.6. und 2.7.76) bzw. im Versuch 75 nach drei Wochen (5.7.75). Dabei wurden die Blattrosetten dicht über dem Boden abgeschnitten, die Blätter an der kurzen Sproßachse abgepflückt und sofort im Umluft-Trockenschrank (Heraeus Typ TU1) bei 35°C getrocknet.

Tabelle 33 : Zusammenstellung der Anzahl der Pflanzen und der daraus gewonnenen Drogenmenge, die bei den Versuchen der Jahre 1975 und 1976 eingesetzt wurden.

	Anzahl der geernteten Pflanzen	Frischgew. (g)	Trockengew. (g)	Trocknung verlust %
Versuch 75	63	454	79	82,6
Versuch 76	122	2094	439,5	79
Vorversuch 76	21	152	30,5	80

Anschließend pulverte man die Drogen in einer Culatti-Schlagmühle mittelfein.

Für die Extraktion setzten wir 470 g Droge (aus Vor- und Hauptversuch) ein. In einem 2 l Rundkolben wurden 120 g Droge mit 1000 g heißem 70%igem Äthanol übergossen und 15 Minuten unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten filtriert man in einen 6 l Erlenmeyerkolben, wusch den Drogenrückstand mehrmals mit Wasser nach, preßte schließlich ab und füllte auf 3000 g auf. Die Ballaststoffe wurden danach mit 660 g Bleiacetatlösung (s. exper. Teil 1.3.) ausgefällt und der Niederschlag abfiltriert. Durch Zusatz von 830 g Dinatriumhydrogenphosphatlösung (s. exper. Teil 1.3.) wurde anschließend der Blei-Überschuß gefällt, abfiltriert und das Filtrat portionsweise mit Chloroform-Isopropanol (3+2) ausgeschüttelt, insgesamt fünfmal mit jeweils 1050 ml. Die Bestimmung der Aktivität von wäßriger und organischer Phase ergab etwa ein Verhältnis von 3:1 (wäßrige: organische Phase). Die organische Phase

urde bei 40° C Badtemperatur am Rotationsverdampfer im Vakuum
ur Trockne eingeengt, der Eindampfrückstand (= Rohextrakt)
on jeweils 120 g Droge in 20 ml Chloroform-Methanol (1+1)
aufgenommen und zur papierchromatographischen Trennung ver-
andt. Vollständig aufgearbeitet (d.h. aufgetrennt) wurden
ur 360 g Droge entsprechend 9,5 g Rohextrakt (Versuch 75:
9 g Droge $\hat{=}$ 3,74 g Rohextrakt).

2.3. Isolierung der Glykoside

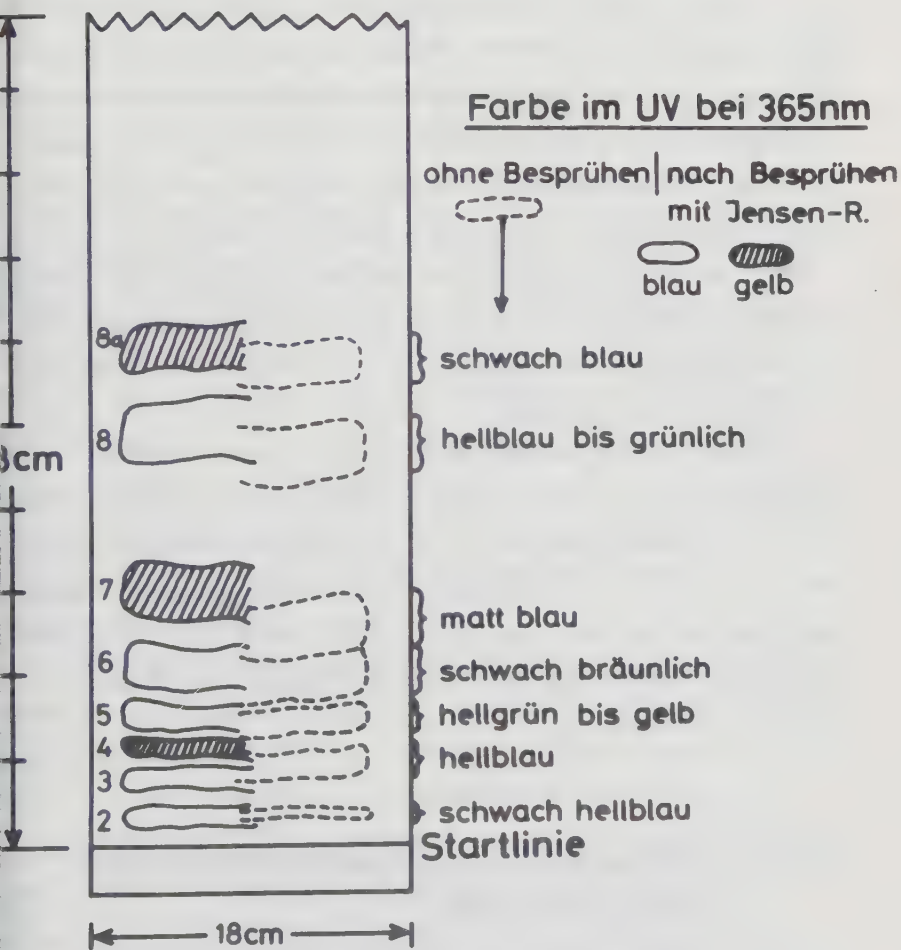
Die Trennung des Glykosidgemisches ist schon im Abschnitt
2.2. kurz beschrieben worden (s. Abbildung 11), Herstellung
er Chromatogramme und Abbildung einer PC-Kammer s. exper.
eil 1.4. Nachdem die Startlinie mit 200 μ l Aceton-Formamid
4+1) noch zusätzlich imprägniert worden war, wurden vom Roh-
extrakt je Chromatogramm (Laufzeit 5 - 6 Std.) 250 μ l
 $\hat{=}$ $\sim$ 39 μ g Rohextrakt bzw. 1,5 g Droge) strichförmig in einer
breite von 15 - 16 cm aufgetragen (100 μ l Pipette). Zur opti-
alen Sättigung des Papiers mit Fließmitteldämpfen blieben
ie Chromatogramme über Nacht ohne Fließmittelzusatz in der
ammer hängen und wurden erst am nächsten Morgen entwickelt.
ies brachte folgende Vorteile: aus der gleichmäßigen Durch-
euchtung des Papiers resultierte ein besseres Fließverhalten
nd somit bessere Trennung. Außerdem verkürzte sich dadurch
ie Entwicklungsdauer.

Die 5Std.-Chromatogramme sollten hauptsächlich der Vor-
rennung dienen. Hierbei wurden alle Glykoside mit größerem
f-Wert als Lanatosid C (Aglyka, Lanatosid A, E und B,

Strospesid) sowie die braun gefärbte Startzone abgetrennt und lediglich Lanatosid A und B bereits endgültig isoliert. Dazu schnitt man die entsprechenden Zonen (s. Abbildung 11) nach Detektion eines schmalen Streifens mit Jensens-Reagenz (s. exp. Teil 1.5.) aus und bewahrte sie bis zur Elution trocken auf.

Der Rest des Chromatogramms enthielt noch folgende Glykoside (mit zunehmender Polarität): Lanatosid C und Glucoevatromonosid (Zone I), Glucolanadoxin, Odorobiosid G, Glucogitorosid, Glucoverodoxin, Glucodigifucosid, Digitalinum verum und Glucogitofucosid (Zone II). Zone I und Zone II zerschnitt man in etwa 1 cm^2 große Stückchen und eluierte beide Zonen getrennt in einem Erlenmeyerkolben mit Methanol. Nach etwa einer Stunde wurde abfiltriert und der Vorgang zweimal mit verkürzter Elutionsdauer wiederholt. Schließlich wurde bei 40°C im Vakuum eingedampft und der Rückstand in soviel Chloroform-Methanol (1+1) aufgenommen, daß ein Teil davon 1,3 Teilen Rohextrakt entsprach. Davon wurden wiederum $250\text{ }\mu\text{l}$ pro Chromatogramm aufgetragen. Durch das Abtrennen der oben genannten Chromatogrammenteile war die Erhöhung der Konzentration ohne Verschlechterung der Trennung durchführbar. Beide Zonen wurden dann getrennt chromatographiert: Zone I 16 Stunden, Zone II 20 Stunden. Die Teilung war notwendig, da Lanatosid C nach 20 Stunden bereits abgetropft wäre, die polaren Glykoside der Zone II nach 16 Stunden aber noch nicht optimal getrennt erschienen. Zur Sättigung des Papiers waren jetzt 6 Stunden ausreichend, so daß die Chromatogramme morgens aufgetragen und über Nacht entwickelt werden konnten. Nach zweistündigem Trocknen bei 120°C konnten im UV bei 365 nm unterschiedlich fluoreszierende

Präparative PC-Trennung:



= Glucogitofucosid

= D. verum

= Glucodigifucosid

= Glucoverodoxin

6 = Glucogitorosid

7 = Odorobiosid G

8 = Glucolanadoxin

8a = ?

Begleitsubstanzen markiert werden. Nach Besprühen eines Streifens mit Jensens-Reagenz konnte bald festgestellt werden, daß die relative Lage der Glykosidzonen zu der der fluoreszierenden Begleitsubstanzen sehr konstant war (s. Abbildung 37), so daß später nur noch stichprobenweise besprüht wurde. Diese Art der Markierung war bei der Zone I nicht möglich, da fluoreszierende Begleitsubstanzen fehlten. Folglich mußte hier von jedem Chromatogramm ein Streifen besprüht werden.

Die isolierten Glykosidzonen wurden schließlich mit Methanol eluiert (s. Elution der Zonen I und II) und eingedampft. Für die Extraktion, Chromatographie und die Isolierung waren insgesamt 7 Wochen notwendig.

Vor der Applikation der markierten Glykoside wurde von jeder Fraktion, die in einer bestimmten Menge Methanol gelöst worden war, ein Chromatogramm mit 10 µl pro Bahn angefertigt. Daraus wurde der Gehalt an Hauptglykosid und Verunreinigungen photometrisch bestimmt (s. exper. Teil 1.5.) sowie deren Aktivität ermittelt. Die Messung der Radioaktivität ist im Abschnitt 6.2.4.2. beschrieben.

6.2.4. Untersuchung der mit ^{14}C -markierten Glykosiden behandelten Pflanzen

6.2.4.1. Aufarbeitung des getrockneten Pflanzenmaterials

Die Trocknung erfolgte wie schon im Abschnitt 2.2. beschrieben. Für die Extraktion (s. exper. Teil 1.3.) setzte man sofern vorhanden 6 g Droge ein. Das Trockengewicht einer Pflanze lag meistens zwischen 5 und 10 g.

6 g Droge + 40 g 70%igem Äthanol extrahiert

ad 130 g Wasser

20 g Bleiacetatlösung

25 g Dinatriumhydrogenphosphatlösung

Ausschütteln mit Chloroform-Isopropanol (3+2)

1 • 60 ml, 4 • 35 ml

Der Eindampfrückstand wurde in Methanol gelöst in einen 0 ml Meßkolben überführt und auf 50,00 ml aufgefüllt (= Stammlösung A). Für die Herstellung von 2 Chromatogrammen mit je 5 Bahnen brachte man 10 ml der Stammlösung A in einem Spitzgläschen zur Trockne und nahm den Rückstand in 0,20 ml Chloroform-Methanol (1+1) auf (= Stammlösung B). Für ein Durchlaufchromatogramm (18 Std. Laufzeit) wurden auf alle 5 Bahnen, für ein 5 Std.-Chromatogramm nur auf 4 Bahnen - eine blieb für den Leerwert frei - je 20 µl der Stammlösung B mit einer 25 µl Hamilton-Spritze (705 SN) aufgetragen.

Bei der Berechnung ging man von 100 µl (statt 200 µl Stammlösung B) und 10 µl (statt 20 µl) pro Bahn aus, so daß der Eindampfrückstand einer Pflanze insgesamt 500 µl entsprach (s. Tabelle 17 - 26). Aus diesen Chromatogrammen wurde einerseits die quantitative Zusammensetzung ermittelt (s. exper. Teil 1.5.1.), andererseits die Messung der Radioaktivität vorgenommen. Zwei Bahnen wurden mit Jensens-Reagenz besprüht. Diese dienten zunächst zur Ermittlung der Lage der Flecken auf den unbesprühten Streifen (für die quantitative Bestimmung), anschließend wurden die besprühten Chromatogramme zur Radioaktivitätsmessung benutzt.

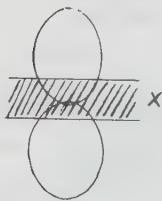
6.2.4.2. Messung der Radioaktivität ⁺

Die Messung erfolgte in einem Flüssigszintillationszähler BF 5000 (Fa. Berthold Frieske).

Die Meßzeit je Probe betrug insgesamt 30 Minuten, wobei eine Messung 10 Minuten dauerte und im Abstand von 5 - 7 Stunden noch zweimal wiederholt wurde.

Die Papierchromatogramme wurden direkt in Szintillationslösung gemessen. Dieses Verfahren wird u.a. in einer Zusammenfassung von J.C. Turner ³³⁾ über Flüssigszintillationsmessungen beschrieben. Bei Probemessungen wurde das Papier zunächst zur Elution mit Methanol versetzt und etwa 30 Minuten danach erst Szintillatorlösung zugegeben. Der Vergleich mit Proben, die nur mit Szintillatorlösung eluiert worden waren, ergab keine wesentlich veränderten Zählraten.

Für die Messung wurde das Papier folgendermaßen behandelt: Nach dem Besprühen (s. exper. Teil 1.5.1.) wurden von jedem Glykosid zwei Flecken ($\approx 20 \mu\text{l}$) in ungefähr $0,25 \text{ cm}^2$ große Stückchen zerschnitten, zusammen in ein Polyäthylenfläsch-



chen gegeben und jeweils 10,0 ml Szintillationslösung zugesetzt. (Szintillationslösung: 4 g PPO + 50 mg POPOP gelöst in 1 l Toluol). In Fällen, in denen zwei dicht zusammenliegende Flecken relativ hohe Zählraten lieferten, wurde die Messung wiederholt und der Bereich (x), in dem eine Überlagerung möglich gewesen

⁺) Herrn Dr. J.C. Köhler, Institut für Pharmazeutische Chemie, sei auch an dieser Stelle für seine Einführung in die Meßtechnik gedankt.

, abgeschnitten und nicht mehr mitgemessen. Zur Ermittlung des Nulleffektes diente eine entsprechende Papiermenge von Leerwertbahn. Der aus drei 10 Minuten-Werten ermittelte Effekt lag bei 25 cpm. In den Tabellen 17 - 26, aus denen Verteilung der Aktivität in den verschiedenen Pflanzen hergeht, sind alle über 30 cpm liegenden Werte aufgeführt. Für eine ernsthafte Interpretation wurden jedoch nur solche Werteangezogen, die mindestens etwa 3fachen Nulleffekt (70 cpm) erreichten.

Mögliche Quench-Effekte wurden nicht berücksichtigt, da keine quantitativen Aussagen beabsichtigt waren, sondern lediglich eine Abschätzung der ungefähren Umwandlungsraten.

7. Zusammenfassung

Im Verlauf der ersten Vegetationsperiode von *Digitalis lanata* wurde in regelmäßigen Abständen die quantitative Glykosidzusammensetzung der Blätter bestimmt.

Der Glykosidgehalt steigt von der Keimpflanze bis zur ausgewachsenen Pflanze um den fast 200.000fachen Betrag an, demgegenüber nimmt das Trockengewicht nur um das 26.000fache zu, damit nimmt hier - im Unterschied zu anderen cardenolidhaltigen Pflanzen (z.B. *Convallaria majalis*) - die Glykosidbiosynthese im Verlauf der Entwicklung stark zu. Die Hauptglykoside der Keimblätter waren Glucodigifucosid, Glucoverodoxin und Digitalinum verum. Lanatoside fehlten, sie konnten erst 45 Tage nach der Aussaat erstmalig nachgewiesen werden. Glucodigifucosid bleibt während der gesamten ersten Vegetationsperiode eines der Hauptglykoside. Im 2. Drittel der Vegetationsperiode steigen die Lanatoside A und C und ebenfalls Glucoverodoxin sehr stark an, zu diesem Zeitpunkt fällt der Gehalt an Glucodigifucosid deutlich ab. Zunächst liegt der Gehalt an Lanatosid A über dem Lanatosid C-Gehalt, nach der ersten Hälfte der Vegetationsperiode ändert sich das Verhältnis jedoch zu Gunsten von Lanatosid C. Bei den übrigen Glykosiden sind solche auffallenden Veränderungen nicht zu beobachten.

Ferner wurde die Glykosidverteilung innerhalb der Blattrosette und des einzelnen Blattes untersucht. Junge Blätter zeigen gegenüber älteren ausgewachsenen Blättern auffallende Unterschiede hinsichtlich des Lanatosid A: Lanatosid C-Verhältnisses; gleiches gilt für Blattbasis und -spitze. In den

gen Blättern und in der Blattbasis ist der Lanatosid A-Gehalt erhöht, in den älteren Blättern und in der Blattspitze liegt gegen den Gehalt von Lanatosid C über dem Gehalt von Lanatosid A bzw. ist etwa gleich hoch.

Eine Untersuchung von Pflanzen, die im Freien überwintern, zeigte, daß unter dem Einfluß niedriger Temperaturen der Lanatosid C-Gehalt im Vergleich zu Gewächshauspflanzen stark fällt, daß aber der Gehalt von Lanatosid A und B sowie Digilinum verum und Glucodigifucosid sich kaum verändert. Die Glykosidzusammensetzung von Blütenkrone, Kelchblättern und Wurzeln wurde analysiert. In den Wurzeln findet man alle auch Blatt vorkommenden Diglykoside mit Ausnahme von Glucodigifucosid, während Lanatoside fehlen.

In Blütenkrone und Kelchblättern entspricht das Glykosidpektrum im wesentlichen dem der Blätter, wobei allerdings in den Blüten nur sehr geringe Konzentrationen von Lanatosid A, Scouevatromonosid, Glucodigifucosid und Glucogitorosid nachgewiesen werden konnten.

Die Gehaltsbestimmung der Glykoside erfolgte nach papierchromatographischer Trennung und Elution der einzelnen Flecken photometrisch (Baljet-Reaktion). Mit dem Ziel die Analytik zu verbessern, wurden Versuche zur quantitativen Direktauswertung an Papierchromatogrammen unternommen. Die Methode der Fluoreszenzmessung nach dem Tauchen der Chromatogramme in Jensensagenz scheint zumindest bei den stark polaren Diglykosiden brauchbar zu sein.

Aus den Untersuchungsergebnissen der ersten Vegetationsperiode wurden einige Rückschlüsse auf die Umwandlungsmöglichkeiten der Glykoside untereinander gezogen. Um jedoch einen genaueren Einblick in die Biosynthese zu gewinnen, wurden Versuche mit ^{14}C -markierten Glykosiden durchgeführt. Deren Gewinnung erfolgte mittels Biosynthese aus ^{14}C -markiertem Natriumacetat. Die isolierten ^{14}C -markierten Glykoside wurden schließlich einzeln an *Digitalis lanata*-Pflanzen appliziert und nach einigen Tagen bzw. Wochen die Verteilung der Radioaktivität innerhalb der Glykosidfraktion gemessen. Die Bildung von Lanatosid A scheint aus mehreren Diglykosiden der Digitoxigeninreihe zu erfolgen, während die übrigen Lanatoside vorwiegend aus Lanatosid A entstehen. Lanatosid A nimmt insofern eine Schlüsselstellung ein, als es auch wieder zu den entsprechenden Diglykosiden abgebaut werden kann. Bei Lanatosid B ließ sich ein Abbau zu Glucoevatromonosid beobachten, demgegenüber findet ein Abbau von Lanatosid C kaum statt.

Glucoevatromonosid wird durch 16 β -Hydroxylierung des Aglykons bzw. zusätzliche Formylierung in Glucogitorosid bzw. Glucolanadoxin umgewandelt. Aus den Markierungsversuchen geht hervor, daß die Umwandlung von Digitoxose in Fucose und Digitalose offenbar möglich ist, während sich der umgekehrte Weg nicht nachweisen läßt. Demgegenüber ist eine Überführung von Fucose in Digitalose und umgekehrt leicht möglich; dafür sprechen die Umwandlung von Glucodigifucosid in Digitalinum verum und Glucoverodoxin, und von Digitalinum verum in Glucodigifucosid, Glucoverodoxin und Glucogitofucosid.

Die Beteiligung eines Enzymkomplexes an der Umwandlung der Glucofucoside und Glucodigitaloside wird diskutiert.

8. Tabellen- und Abbildungsanhang

Zusammenfassung der Tabellen 17 - 27 und der Abbildungen 12 - 31

<u>Tabelle</u>		<u>Abbildung</u>
7 a - j	Lanatosid A Pflanze 42-47 ; I-III	12, 22
8 a - f	Lanatosid B " 48-53 ;	13, 23
9 a - h	Lanatosid C " 54-59 ; I-II	14, 24
10 a - f	Glucosylatromonosid " 30-35 ;	15, 25
11 a - h	Glucogitorosid " 13-18 ; I-II	16, 26
12 a - f	Glucolanadoxin " 1-6 ;	17, 27
13 a - j	Glucodigifucosid " 7-12 ; I-III	18, 28
14 a - e	Glucogitofucosid " 19-23 ;	19, 29
15 a - f	Odorobiosid G " 24-29 ;	20, 30
16 a - h	Digitalinum verum " 36-41 ; I-II	21, 31
17 a - d	Aktivität der Verunreinigungen	

Tabelle 17a - 26f : Seite 187 - 257

Zusammenfassung der Meßwerte über die Verteilung der Aktivität innerhalb der Glykosidfraktion sowie die quantitative Zusammensetzung des Glykosidgemisches in jeder behandelten Pflanze. Pflanzen des Jahres 1975 sind mit römischen, Pflanzen des Jahres 1976 mit arabischen Ziffern bezeichnet). Zählraten unter 30 cpm wurden dem Nulleffekt (25 cpm) gleichgesetzt und in den Tabellen nicht aufgeführt. Alle übrigen Werte sind angegeben, auch wenn sie für eine Interpretation uninteressant sind.

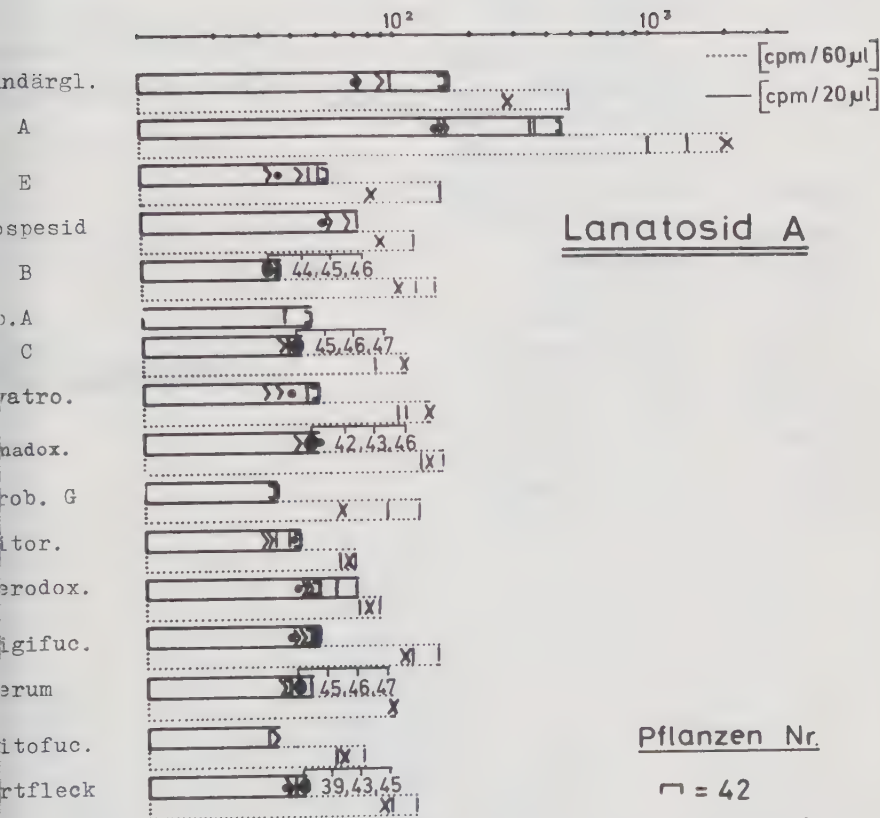
Abbildung 12 - 21 : Seite 157 - 166

Verteilung der Aktivität innerhalb der Glykosidfraktion; Darstellung im logarithmischen Maßstab. Jede Abbildung umfaßt eine Pflanzengruppe, an die jeweils dasselbe Glykosid appliziert wurde.

Abbildung 22 - 31 : Seite 167 - 185

Verteilung der Aktivität, dargestellt als % Anteil an der im applizierten Glykosid wiedergefundenen Aktivität, die gleich 100 % gesetzt ist (zugehörige Werte s. Tabelle 17a - 26h). In jeder Abbildung ist eine Pflanzengruppe zusammengefaßt, die mit demselben Glykosid behandelt wurde. Für jedes der im Extrakt gemessenen Glykoside entspricht die Reihenfolge der Säulen (1-6) von links nach rechts der Reihenfolge der Ernten bei den verschiedenen Pflanzen. Die Kennnummern der Pflanzen sind auf der Abbildung zusammen mit den zugehörigen Ernteterminen angegeben.

2 :



Lanatosid A

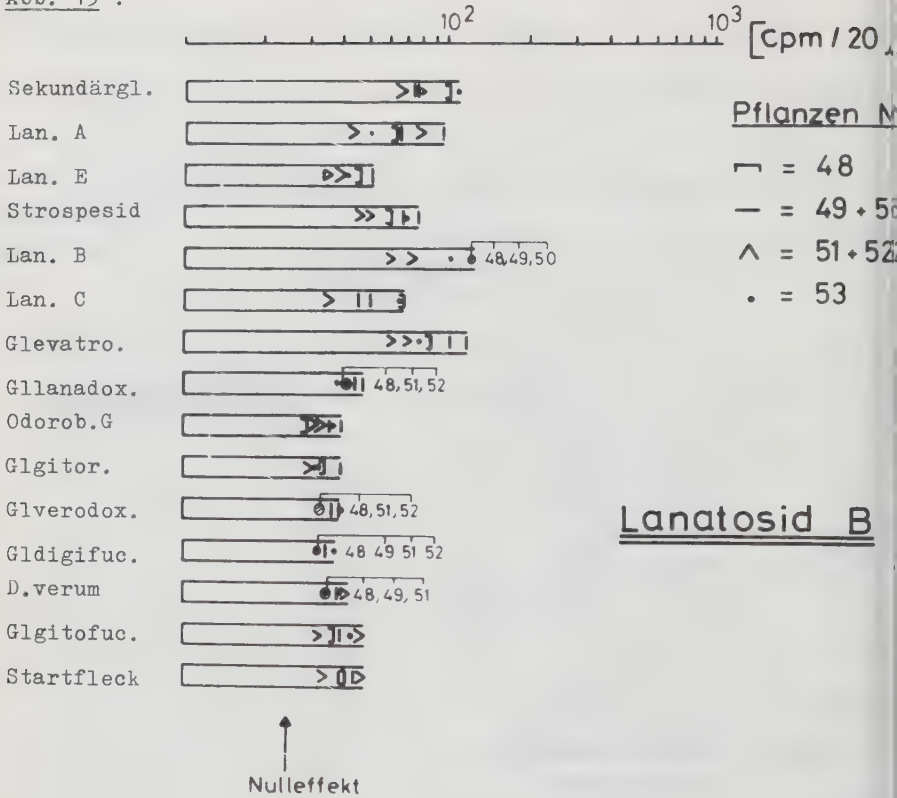
Pflanzen Nr.

- = 42
- = 43 + 46
- △ = 44 + 45
- = 47

Versuch 75

$$\left\{ \begin{array}{l} - \square + \blacksquare \\ \times I \end{array} \right.$$

Abb. 13 :



14 :

Lanatosid C

..... [cpm / 100 µl]

— [cpm / 20 µl]

Pflanzen Nr.

□ = 54

— = 55 + 56

^ = 57 + 58

• = 59

Versuch 75

..... = I + II

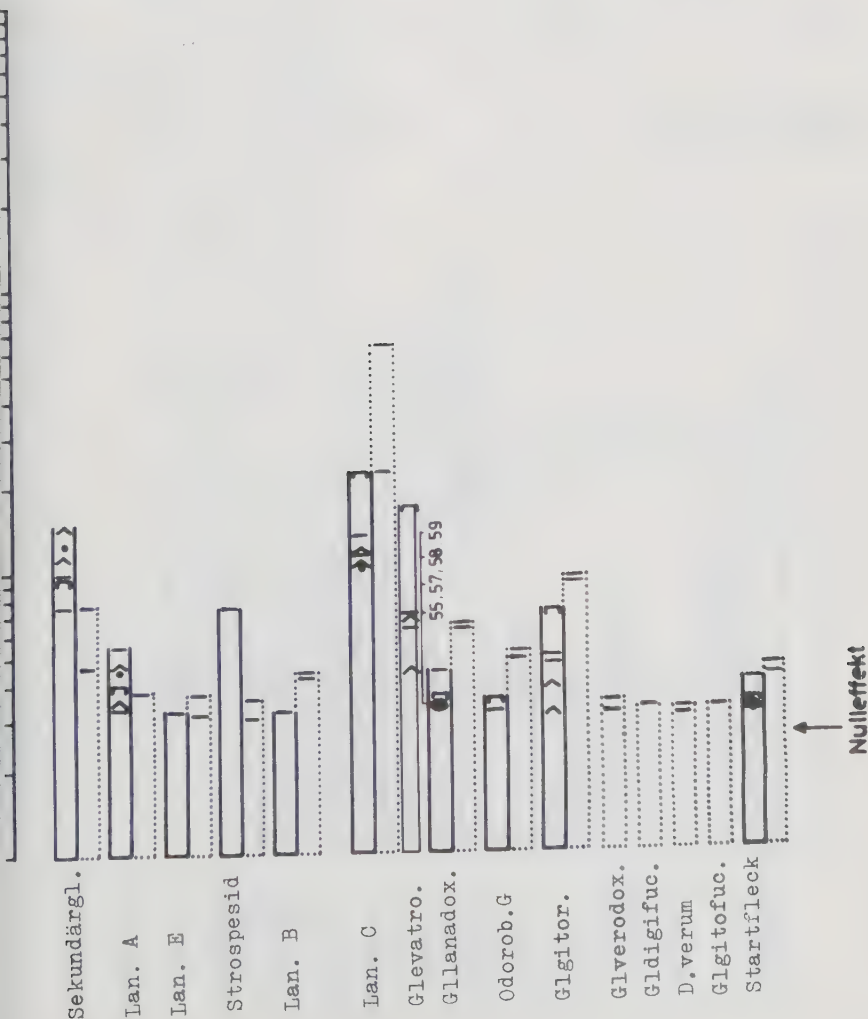
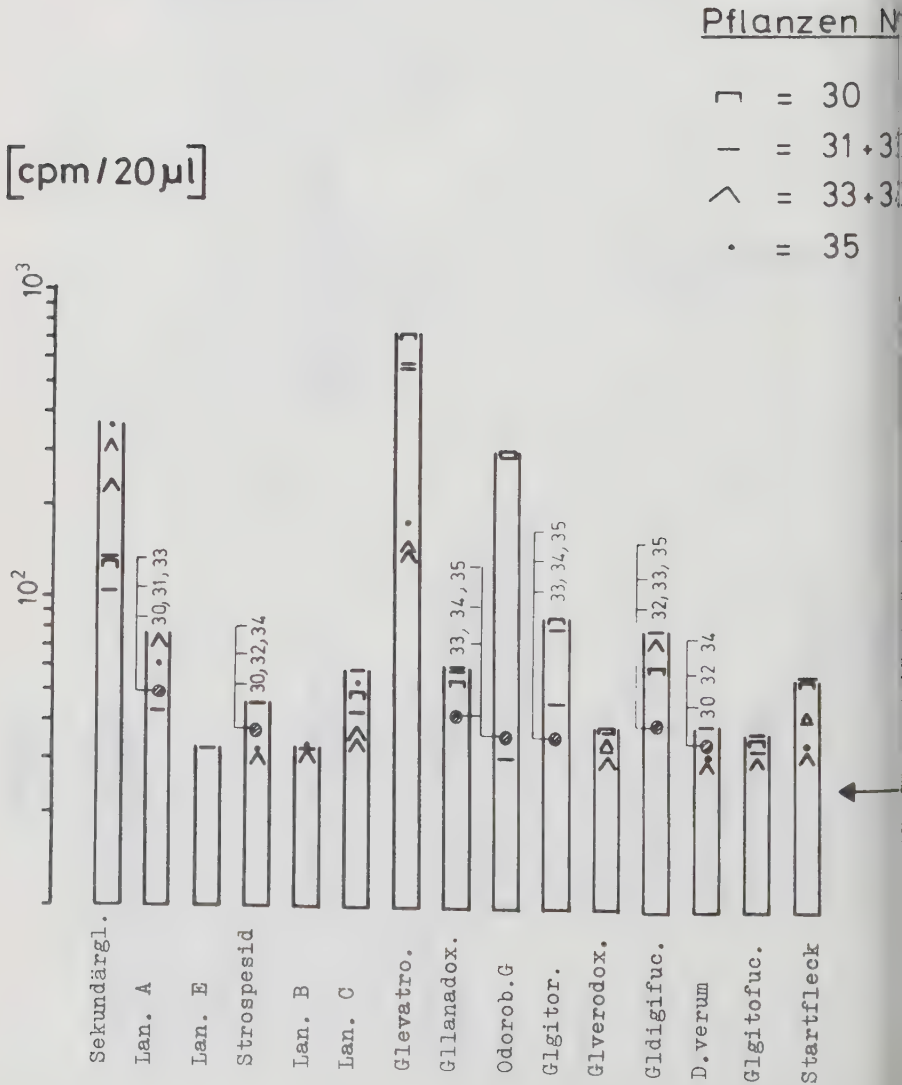
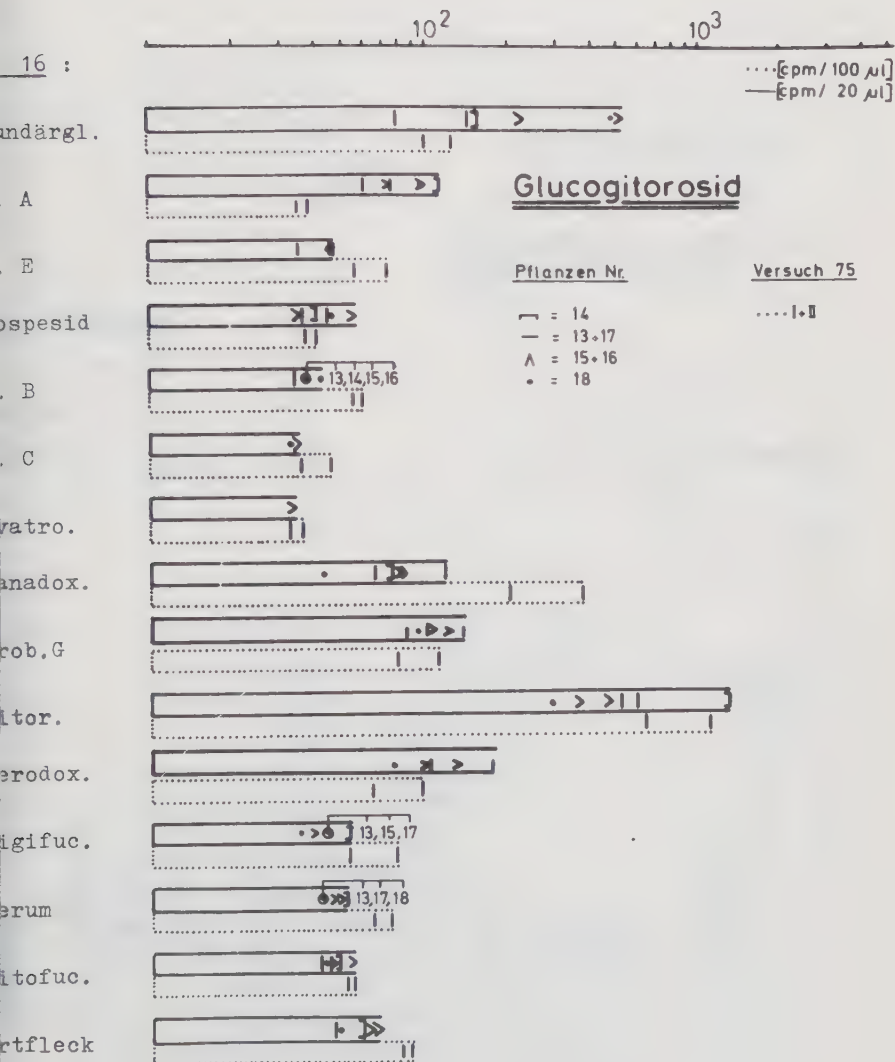


Abb. 15 :

Glucoevatromonosid

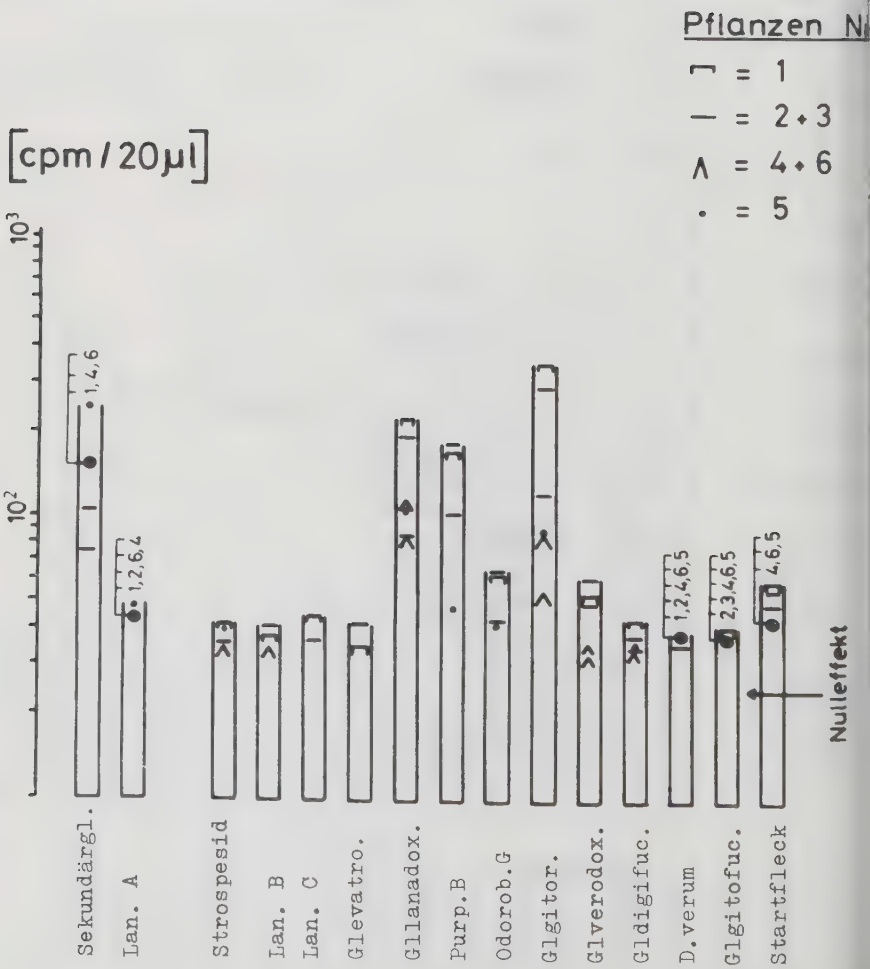




Nulleffekt

Abb. 17 :

Glucolanadoxin



18 :
 andärgl.
 A
 E
 ospesid
 C
 vatro.
 anadox.
 rob.G
 itor.
 erodox.
 igifuc.
 erum
 itofuc.
 rtfleck

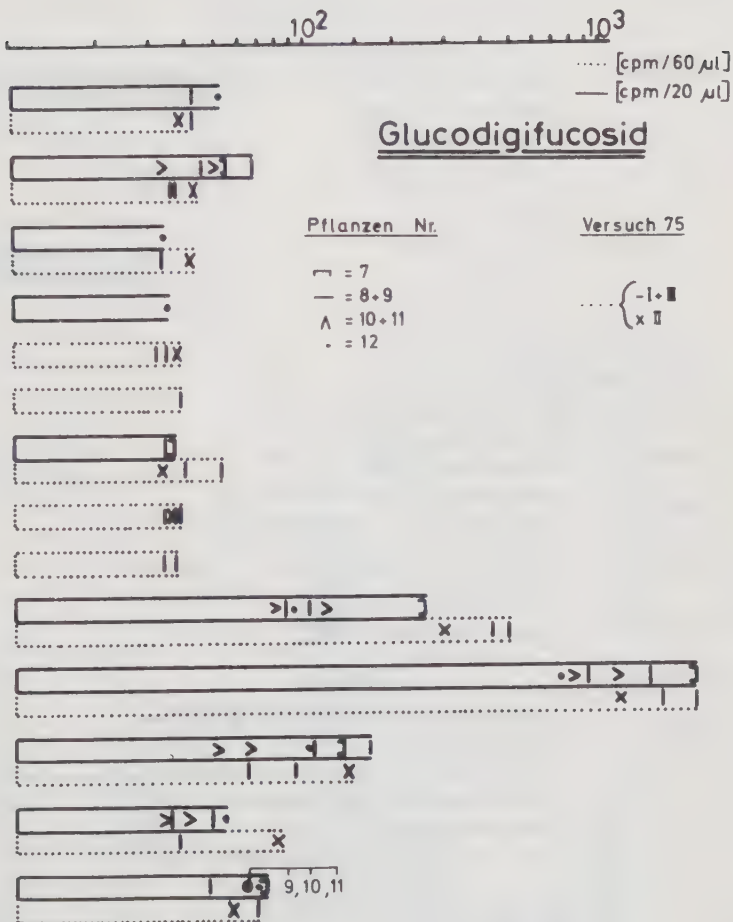


Abb. 19 :

10^2

[cpm/20 μ l] 10

Sekundärgl.

Lan. A

19, 20, 21

Glucogitofucosid

Pflanzen Nr.

- = 20
- = 19-21
- Λ = 22
- = 23

Glevatro.

Gllanadox.

Odorob.G

Glgitor.

Glverodox.

Gldigifuc.

D.verum

Glgitofuc.

Startfleck

19, 20, 23



Nulleffekt

b. 20 :

Odorobiosid G

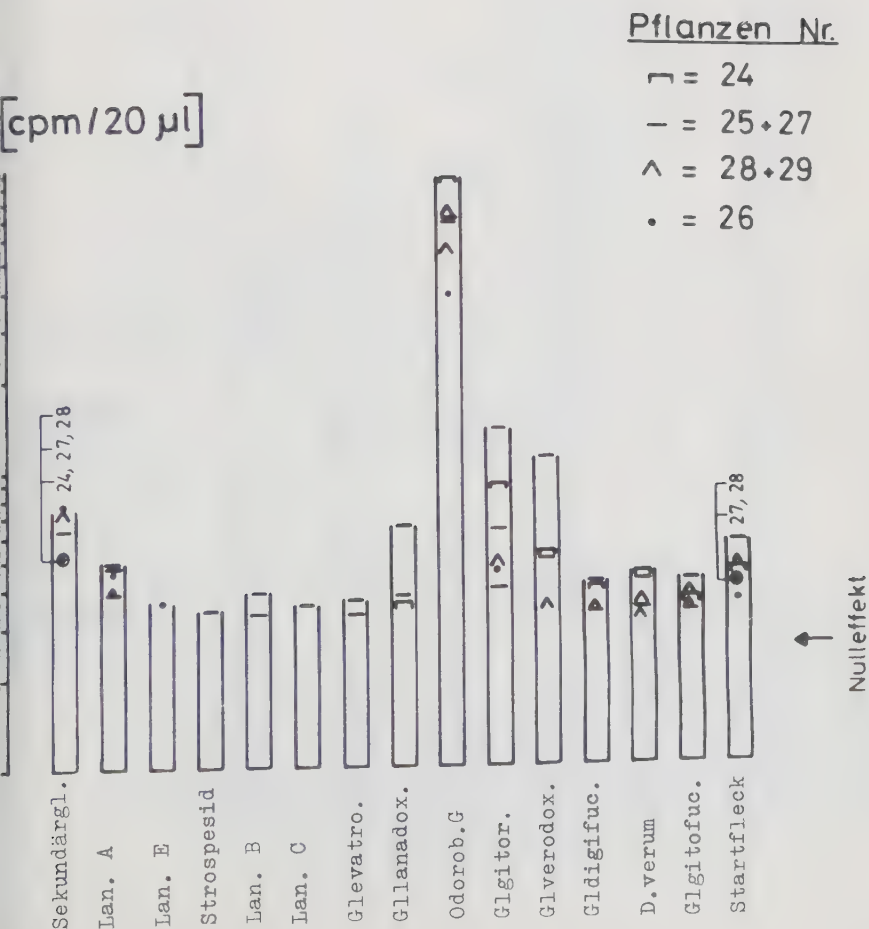
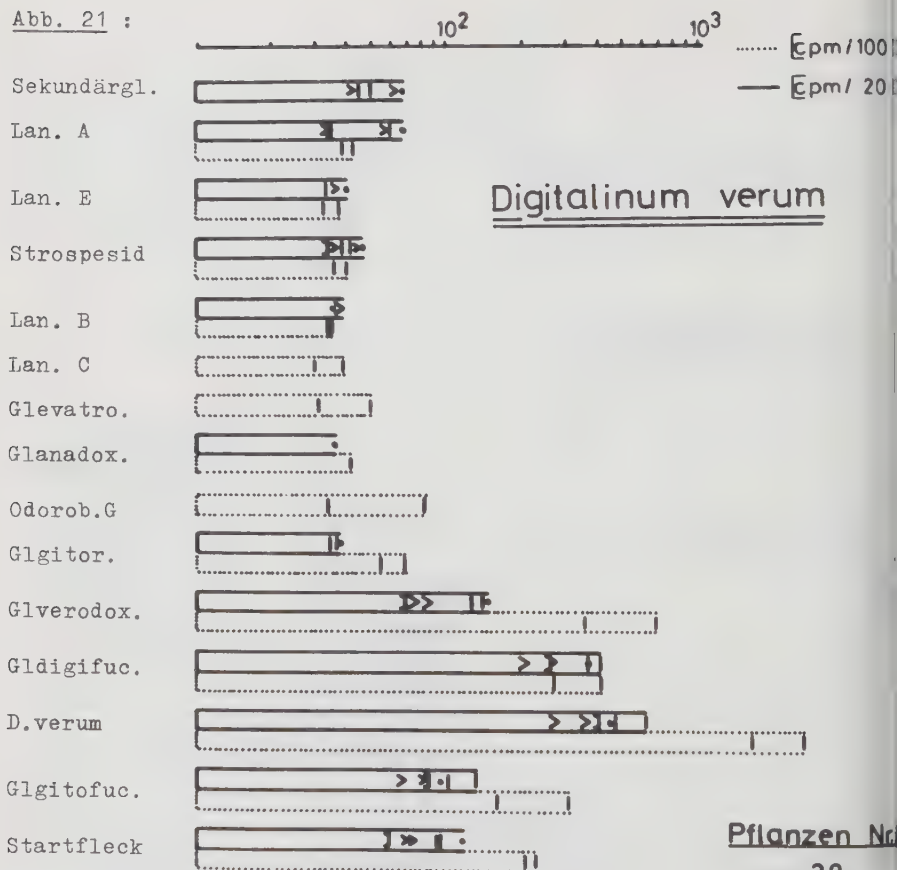


Abb. 21 :



Pflanzen Nr

□ = 38

— = 36 + 37

^ = 39 + 41

• = 40

Versuch 75

----- - [•]

Abb. 22

‰ Anteil d. Aktivität
an A = 100 ‰

Lanatosid A

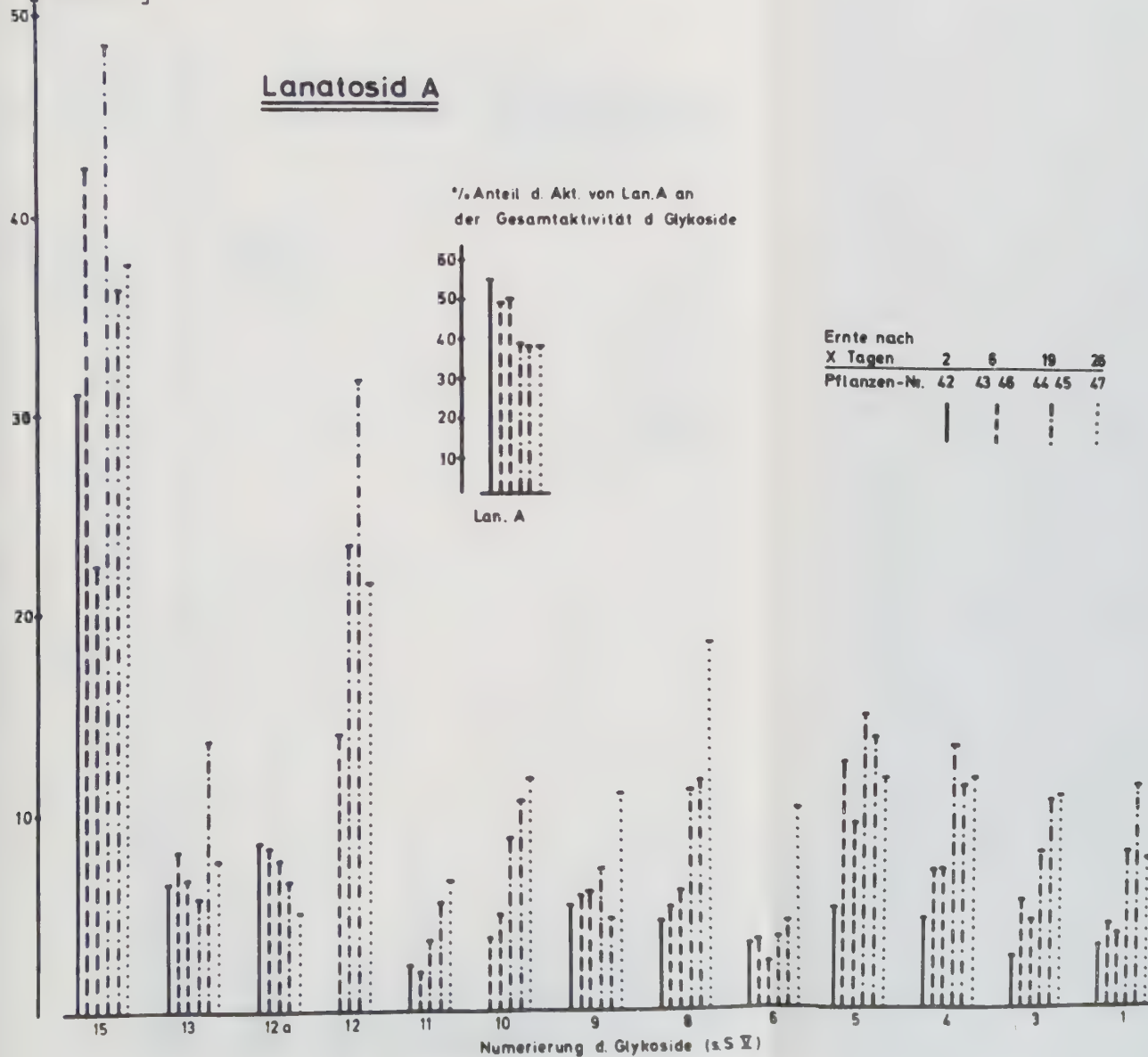


Abb. 23

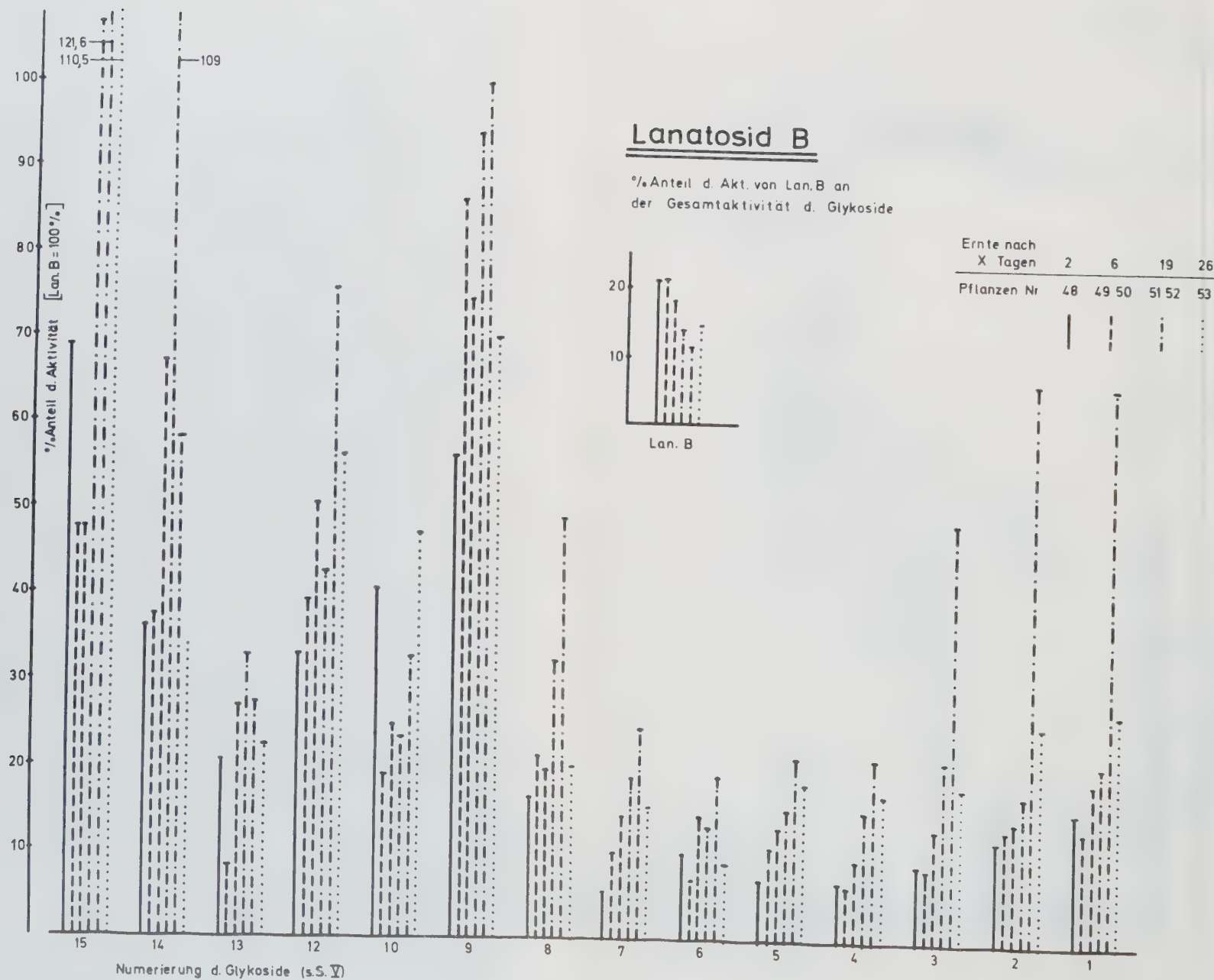
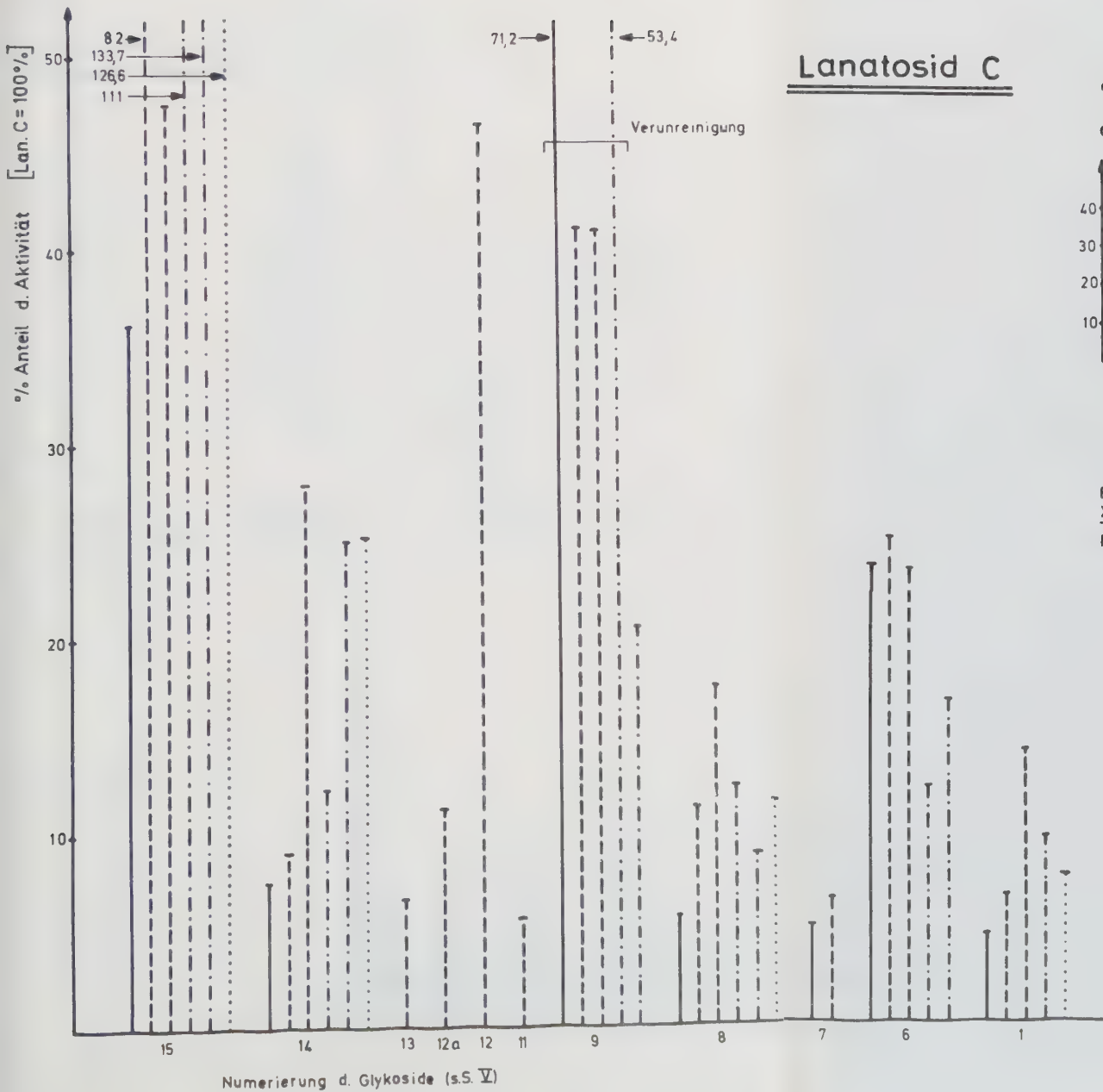
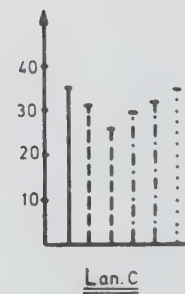


Abb. 24



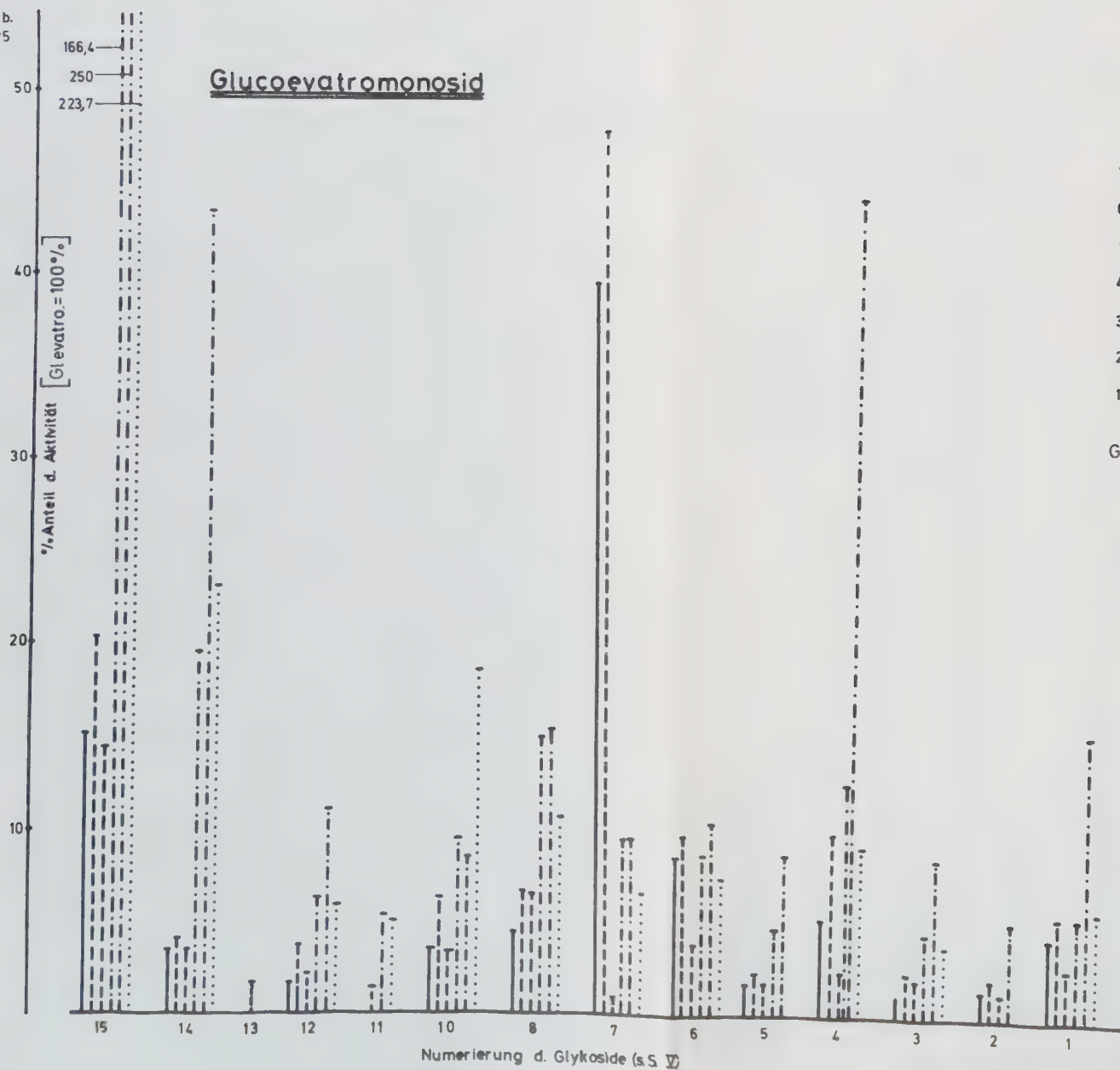
Lanatosid C

% Anteil d. Akt. von Lan. C an
der Gesamtk. d. Glykosid

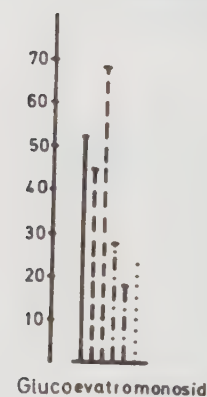


Ernte nach X Tagen	2	6	19	26
Pflanzen Nr.	54	55	56	57 58 59

Abb.
25



% Anteil d. Akt. von Gl. evatrom. an
der Gesamtaktivität d. Glykoside



Ernte nach X Tagen	2	6	19	26
Pflanzen-Nr	30	31 32	33 34	35

Abb. 26

Glucogitorosid

%. Anteil d. Aktivität [Glucogitorosid = 100 %]

50

40

30

20

10

145

179,5

Verunreinigung

%. Anteil d. Akt. v. Glucogitorosid an der Gesamtaktivität d. Glykoside

70

60

50

40

30

20

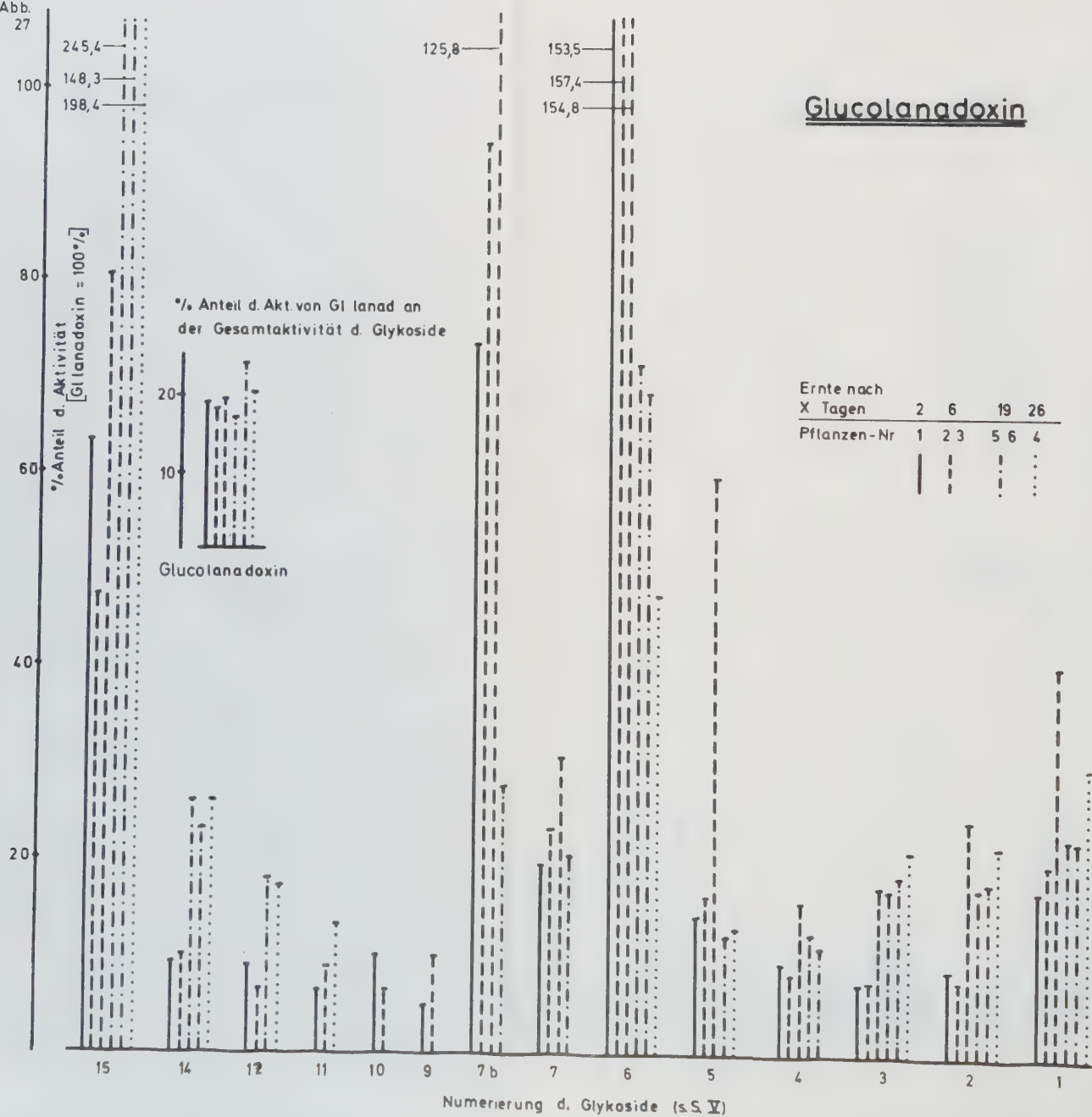
10

Glucogitorosid

Ernte nach X Tagen	2	5	19	26
Pflanzen-Nr.	14	13 17	15 16	18

Numerierung d. Glykoside (s.S. V)

Abb.
27



% Anteil d Akt v. Gl digifuc an der
Gesamtaktivität d Glykoside

Glucodigifucosid

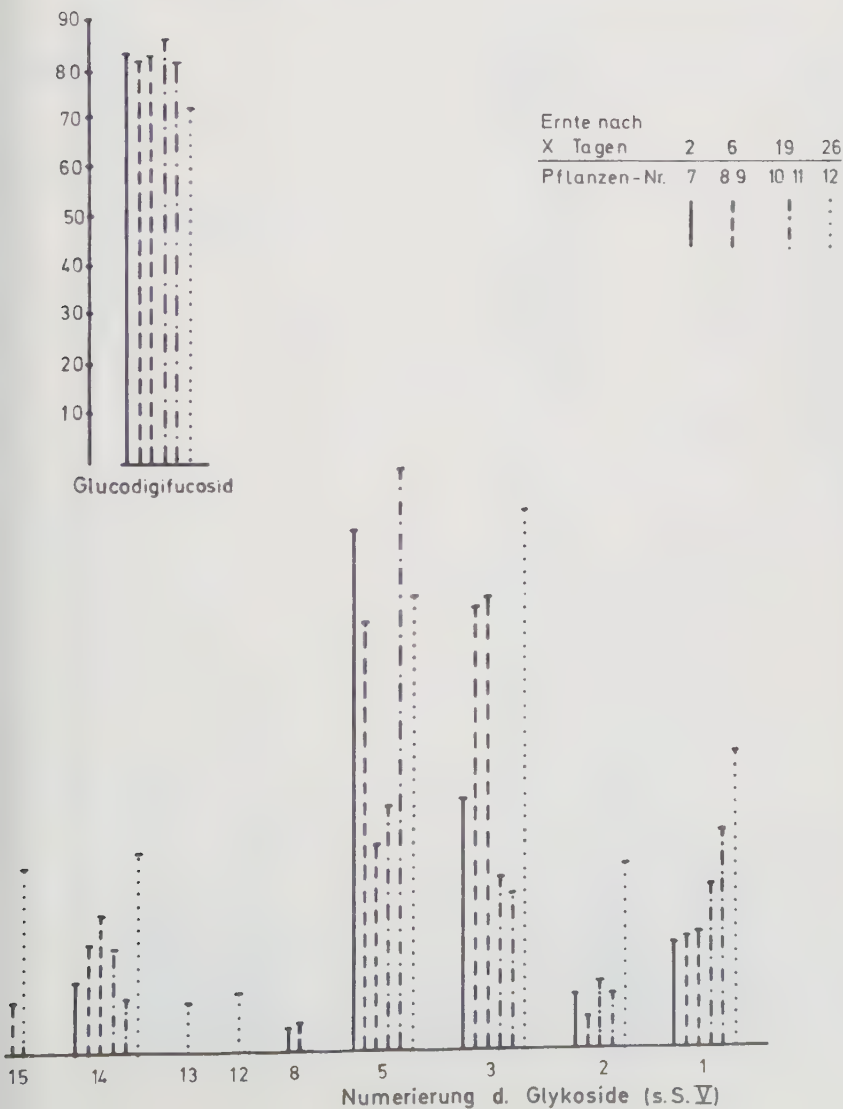


Abb. 29

Glucogitofucosid

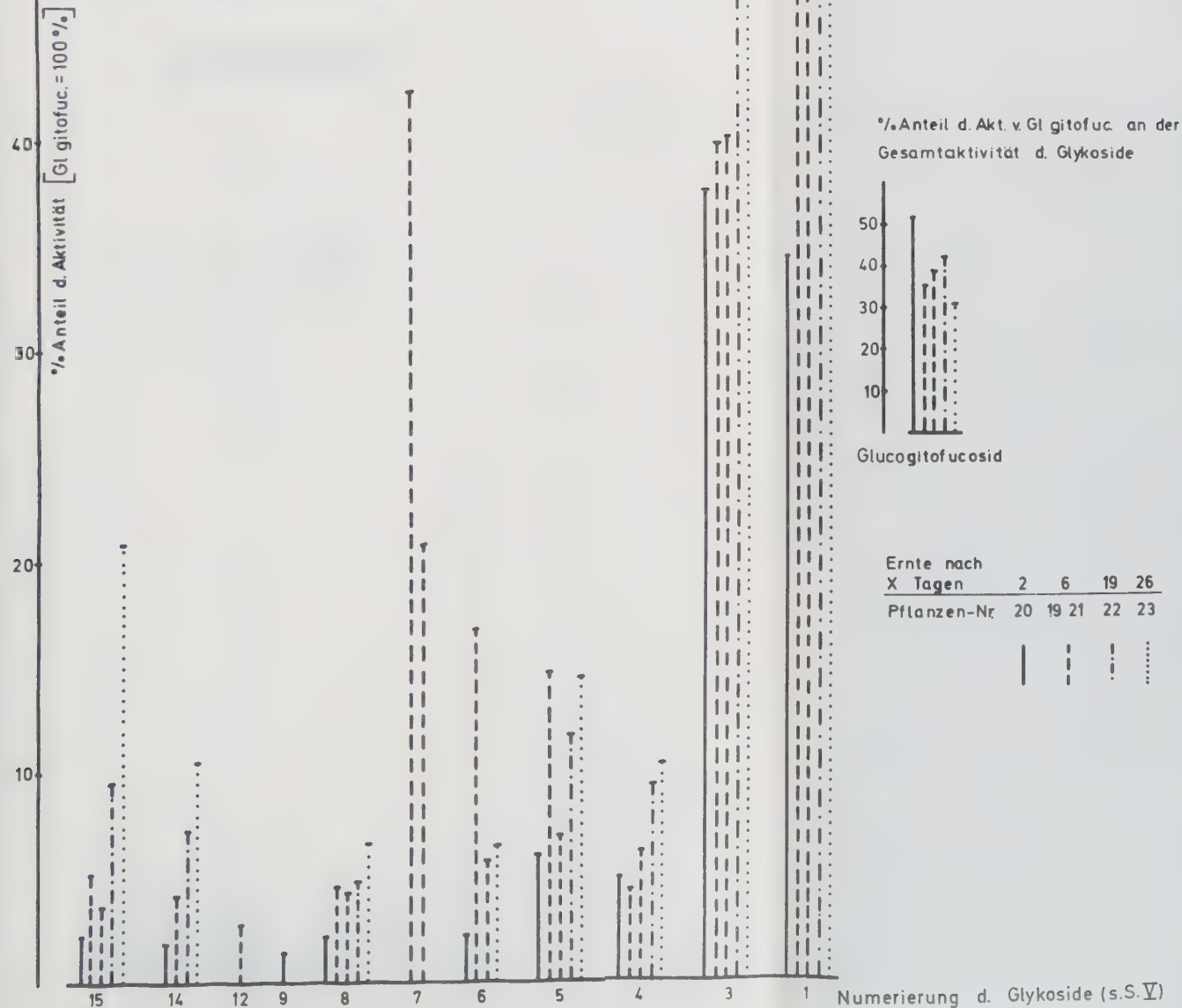
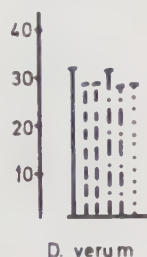


Abb. 31

Digitalinum verum

% Anteil d. Aktivität D. verum = 100 %

% Anteil d. Akt.v. D.verum an der
Gesamtaktivität d. Glykoside



62
63,5
65,1
72,1
74,6
79,6

Ernte nach

X Tagen 2 6 19 26

Pflanzen-Nr 38 36 37 39 41 40



15 14 13 12 11 8 6 5 4 2 1

Numerierung d. Glykoside (s.S.V)

elle 17a

Lanatosid A (42)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7,2g) (5,1g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100 g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
. A	460	15353	53,8	100	231	28,1
. E	53	988	3,5	6,4	34,5	4,2
iprosid	61	1270	4,4	8,3	-	-
. B	34	318	1,1	2,1	12	1,5
p. A	45	706	2,5	4,6	-	-
	32	247	0,86	1,6	-	-
. C	-	-	-	-	-	-
vatro.	48	812	2,8	5,3	39	4,7
	-	-	-	-	-	-
	35	353	1,2	2,3	-	-
anadox.	44	670	2,3	4,4	89	10,8
. D	-	-	-	-	-	-
rob. G	32	247	0,86	1,6	45	5,5
gitor.	39	494	1,7	3,2	92	11,2
erodox.	47	776	2,7	5	134	16,3
igifuc.	44	670	2,3	4,4	94	11,4
erum	36	388	1,3	2,5	51	6,2
gitofuc.	-	-	-	-	-	-
rtfleck	39	494	1,7	3,2	821,5 (Σ)	
rundärgl.	160	4765	16,7	31		
n-Summe	1209					
leffekt	-400					
Σ	809	28551				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 17b

Lanatosid A (43)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 8,45 g) (4,97g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100 g Droge	%Ante am GG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	354	13984	47,5	100	179	20,9
Lan. E	51	1105	3,75	7,9	21	2,4
Digiprosid	52	1147	3,9	8,2	-	-
Lan. B	-	-	-	-	-	-
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	37	510	1,7	3,6	130	15,2
Glevatro.	44	807	2,7	5,8	37	4,3
8b	34	382	1,3	2,7	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	42	722	2,45	5,2	42	4,9
Lan. D	-	-	-	-	-	-
Odorob.G	32	297	1	2,1	40	4,6
Glgitor.	36	467	1,6	3,3	40,6	4,7
Glverodox.	66	1743	5,9	12,5	159	18,6
Gldigifuc.	48	977	3,3	7	128	15
D.verum	43	765	2,6	5,5	78,7	9,2
Glgitofuc.	-	-	-	-	-	-
Startfleck	39	595	2	4,2	855,3 (Σ)	
Sekundärgl.	165	5950	20,2	42,5		
cpm-Summe	1043					
Nulleffekt	-350					
Σ	693	29451				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

le 17c

Lanatosid A (46)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 10,9g) (5,16g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100 g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
	341	16688	49	100	121	15,5
	46	1109	3,2	6,6	19	2,4
rosid	49	1267	3,7	7,6	-	-
esid	69	2323	6,8	13,9	-	-
	31	317	0,9	1,9	6	0,7
A	36	581	1,7	3,5	-	-
	33	422	1,2	2,5	-	-
	40	792	2,3	4,7	99	12,7
tro.	44	1003	2,9	6	20	2,6
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
dox.	44	1003	2,9	6	45	5,8
.G	-	-	-	-	26	3,3
r.	32	370	1,1	2,2	43	5,5
dox.	55	1584	4,6	9,5	153	19,6
fuc.	47	1162	3,4	7	178	22,8
um	39	739	2,2	4,4	55	7
fuc.	30	264	0,8	1,6	13	1,7
fleck	37	634	1,9	3,8	778 (Σ)	
ärgl.	96	3750	11	22,5		
mmme	1069					
tekt -	425					
Σ	644 ===	34008 =====				

G = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 17d

Lanatosid A (44)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (=10,5 g) (4,93g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100 g Droge	%Ant am G
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	161	7240	37,3	100	188	23,8
Lan. E	33	426	2,2	5,9	29	3,6
Digiprosid	34	479	2,5	6,6	-	-
Strospesid	57	1704	8,8	23,5	-	-
Lan. B	30	266	1,3	3,7	13	1,6
10a	32	373	1,9	5,1	-	-
Lan. C	37	639	3,3	8,8	57,5	7,3
Glevatro.	35	532	2,7	7,3	15	1,9
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	40	798	4,1	11	48	6
Odorob.G	-	-	-	-	43	5,4
Glgitor.	30	266	1,3	3,7	36,7	4,6
Glverodox.	45	1065	5,5	14,7	154	19,5
Gldigifuc.	43	958	4,9	13,2	142	18
D.verum	36	585	3	8	64,5	8,1
Glgitofuc.	-	-	-	-	-	-
Startfleck	36	585	3	8	790,7 (Σ)	
Sekundärgl.	91	3514	18	48,5		
cpm-Summe	740					
Nulleffekt	-375					
Σ	365	19430				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

le 17e

Lanatosid A (45)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,1g) (4,89 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	157	6141	36,5	100	94	11,2
E	43	837	5	13,6	44	5,2
spesid	67	1954	11,6	31,8	-	-
B	32	325	1,9	5,3	24	2,8
	30	232	1,4	3,8	-	-
C	39	651	3,8	10,6	147	17,5
atro.	31	279	1,6	4,5	11	1,3
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
nadox.	40	698	4,1	11,3	27,5	3,3
D	-	-	-	-	25	3
ob.G	-	-	-	-	63	7,5
tor.	31	279	1,6	4,5	31,5	3,7
rodox.	43	837	5	13,6	123	14,6
gifuc.	40	698	4,1	11,3	141	16,8
rum	39	651	3,8	10,6	75	8,9
tofuc.	32	325	1,9	5,3	<u>33</u>	3,9
tfleck	40	698	4,1	11,3	839 (Σ)	
ndärgl.	73	2233	13,2	36,4		
Summe	737					
effekt	-375					
Σ	362	16838				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 17f

Lanatosid A (47)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (=12,1 g) (4,9 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ant am G
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	145	7408	36,9	100	104	13,
Lan. E	34	555	2,7	7,5	19	2,
Digiprosid	31	370	1,8	5	-	-
Strosposid	51	1605	8	21,6	17	2,
Lan. B	33	494	2,5	6,6	24	3
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	39	864	4,3	11,6	73	9,
Glevatro.	38	802	4	10,8	25	3,
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	47	1358	6,7	18,3	76	9,
Odorob.G	-	-	-	-	-	-
Glgitor.	37	741	3,7	10	59	7,
Glverodox.	39	864	4,3	11,6	233	29,
Gldigifuc.	39	864	4,3	11,6	88	11,
D.verum	38	802	4	10,8	63	8
Glgitofuc.	-	-	-	-	-	-
Startfleck	34	555	2,7	7,5	781 ()	
Sekundärgl.	70	2778	13,8	37,5		
cpm-Summe	675					
Nulleffekt	-350					
Σ	325	20060				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

alle 17g

Lanatosid A I

	cpm/ 60 µl	cpm/Pflanze (4,95 g) (3,62g±500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	2020	22703	62,8	100	145	30,5
E	80	603	1,6	2,6	24	5
spesid	85	661	1,8	2,9	15	3,1
B	100	718	2	3,2	34	7,1
	72	513	1,4	2,2	9	1,9
C	106	900	2,5	4	27	5,7
ratro.	129	1162	3,2	5,1	23	4,8
	100	831	2,3	3,6	-	-
anadox.	130	1173	3,2	5,1	64	13,4
b.G	59	592	1,6	2,6	11	2,3
tor.	62	399	1,1	1,7	35	7,4
erodox.	73	524	1,4	2,3	54	11,3
gifuc.	101	843	2,3	3,7	17	3,6
erum	89	706	1,9	3,1	17	3,6
tofuc.	57	342	0,95	1,5	-	-
tfleck	82	626	1,7	2,7	475 (Σ)	
ndärgl.	277	2848	7,9	12,5		
Summe	3622					
effekt -	459					
Σ	3163 =====	36144 =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 17h

Lanatosid A II

	cpm/ 60 μ l	cpm/Pflanze (=6,5 g) (4,59 g $\hat{=}$ 500 μ l)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ante am GG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	978	11198	51,1	100	187	12,2
Lan. E	148	1425	6,5	12,7	35	2,3
Strospesid	114	1024	4,7	9,1	37	2,4
Lan. B	142	1354	6,2	12,1	52	3,3
10a	82	648	3	5,8	18	1,1
Lan. C	-	-	-	-	-	-
Glevatro.	96	812	3,7	7,2	21	1,3
8b	80	624	2,8	5,6	16	1
Gllanadox.	123	1130	5,1	10,1	54	3,5
Odorob.G	88	212	0,9	1,9	32	2,1
Glgitor.	56	341	1,5	3	45	2,9
Glverodox.	67	471	2,1	4,2	65	4,2
Gldigifuc.	102	883	4	7,9	78	5,1
D.verum	76	577	2,6	5,1	25	1,6
Glgitofuc.	68	483	2,2	4,3	11	0,7
Startfleck	87	706	3,2	6,3	676 (Σ)	
Sekundärgl.	-					
cpm-Summe	2307					
Nulleffekt -	405					
Σ	1902 =====	21888 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

lle 17j

Lanatosid A III

	cpm/ 60 µl	cpm/Pflanze (= 4,5 g) (3,45 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	1414	15034	47,5	100	316	46,7
E	148	1319	4,1	8,8	34	5
spesid	114	299	0,9	2	28	4,1
B	118	1005	3,2	6,7	40	5,9
	70	468	1,5	3,1	-	-
C	79	576	1,8	3,8	7	1
atro.	104	845	2,7	5,6	5	0,7
	100	800	2,5	5,3	-	-
anadox.	146	1303	4,1	8,6	43	6,3
D	41	162	0,5	1	-	-
ob.G	116	975	3,1	6,5	21	3,1
tor.	64	410	1,3	2,7	25	3,7
rodox.	80	589	1,8	3,9	73	10,8
gifuc.	135	1179	3,7	7,8	48	7,1
rum	87	662	2,1	4,4	29	4,3
tofuc.	54	307	1	2	<u>7</u>	1
tfleck	109	888	2,8	5,9	676 (Σ)	
ndärgl.	471	4810	15,2	32		
Summe	3450					
effekt -	486					
Σ	<u>2964</u> =====	<u>31631</u> =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 18a

Lanatosid B (48)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,2 g) (5,4 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	64	1661	7,5	35,8	283	31,8
Lan. E	47	937	4,2	20,2	-	-
Strospesid	61	1533	7	33	22	2,5
Lan. B	134	4642	21	100	56	6,3
10a	48	979	4,4	21	-	-
Lan. C	69	1874	8,5	40,4	(Spuren)	
Glevatro.	86	2598	11,8	56	26	2,9
8b	44	809	3,6	17,4	39	4,4
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	43	766	3,5	16,5	53	6
Odorob.G	31	255	1,1	5,5	28	3,1
Glgitor.	35	426	1,9	9,2	57	6,4
Glverodox.	33	340	1,5	7,3	167	18,8
Gldigifuc.	33	340	1,5	7,3	78	8,8
D.verum	35	426	1,9	9,2	63	7,1
Glgitofuc.	38	553	2,5	11,9	16	1,8
Startfleck	42	724	3,3	15,6	888 (Σ)	
Sekundärgl.	100	3194	14,5	68,8		
cpm-Summe	943					
Nulleffekt	-425					
Σ	518 ===	22057 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 18b

Lanatosid B (49)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 8,96 g) (5,34 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
. A	66	1717	7,9	37,6	137	16,2
. E	34	377	1,7	8,2	70	8,3
ospesid	68	1801	8,3	39,4	29	3,4
. B	134	4565	21,1	100	21	2,5
	41	670	3,1	14,7	-	-
. C	46	879	4	19,2	40	4,7
vatro.	119	3936	18,2	86,2	34	4
	35	419	1,9	9,2	-	-
	45	837	3,9	18,3	-	-
anadox.	48	963	4,4	21,1	60	7,1
rob.G	36	460	2,1	10	41	4,8
itor.	33	335	1,5	7,3	76	9
erodox.	37	502	2,3	11	128	15,1
igifuc.	32	293	1,3	6,4	128	15,1
erum	35	419	1,9	9,2	59	7
itofuc.	40	628	2,9	13,7	<u>23</u>	2,7
rtfleck	40	628	2,9	13,7	846 (Σ)	
undärgl.	77	2178	10,1	47,7		
-Summe	966					
leffekt	-450					
Σ	516	21607				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 18c

Lanatosid B (50)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,39 g) (5,36 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	96	3107	12,2	67,6	210	22,8
Lan. E	52	1182	4,6	25,7	48	5,2
Strospesid	78	2320	9,1	50,5	28	3
Lan. B	130	4595	18	100	28	3
10a	42	744	2,9	16,2	-	-
Lan. C	51	1138	4,5	24,7	30	3,2
Glevatro.	103	3414	13,4	74,3	29	3,1
8b	40	656	2,6	14,3	-	-
8a	42	744	2,9	16,2	-	-
Gllanadox.	45	875	3,4	19	83	9
Odorob.G	40	656	2,6	14,3	50	5,4
Glgitor.	40	656	2,6	14,3	86	9,3
Glverodox.	39	613	2,4	13,3	180	19,5
Gldigifuc.	35	437	1,7	9,5	87	9,4
D.verum	39	613	2,4	13,3	50	5,4
Glgitofuc.	40	656	2,6	14,3	11	1,2
Startfleck	45	875	3,4	19	920 (Σ)	
Sekundärgl.	75	2188	8,6	47,6		
cpm-Summe	1032					
Nulleffekt	-450					
Σ	582	25469				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 18d

Lanatosid B (51)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (=12,86 g) (5,36 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	82	3417	14,9	109	150	19
E	42	1019	4,4	32,7	42	5,3
ospesid	47	1319	5,8	42,3	-	-
B	77	3117	13,6	100	35	4,4
	33	479	2,1	15,3	-	-
C	37	719	3,1	23	46	5,8
ratro.	74	2937	12,8	94	34	4,3
	37	719	3,1	23	-	-
	40	899	3,9	28,8	-	-
anadox.	42	1019	4,4	32,7	81	10,25
rob.G	35	599	2,6	19,2	28	3,5
ltor.	32	419	1,8	13,4	95	12
erodox.	33	479	2,1	15,3	133	16,8
lgifuc.	33	479	2,1	15,3	59	7,5
erum	36	659	2,9	21,1	60	7,6
ltofuc.	34	539	2,3	17,3	27	3,4
rtfleck	36	659	2,9	21,1	790 (Σ)	
undärgl.	81	3357	14,7	107,7		
-Summe	831					
leffekt	-450					
Σ	381	22834				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 18e

Lanatosid B (52)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 12,5 g) (5,25 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ante. am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	45	1188	6	54	100	12,2
Lan. E	35	594	3	27	-	-
Strospesid	53	1664	8,4	75,6	36	4,4
Lan. B	62	2199	11,1	100	24	2,9
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	37	713	3,6	32,4	105	12,8
Glevatro.	62	2199	11,1	100	18	2,2
8b	35	594	3	27	-	-
8a	42	1010	5,1	45,9	-	-
Gllanadox.	43	1069	5,4	48,6	40	4,9
Odorob.G	34	534	2,7	24,3	52	6,3
Glgitor.	32	416	2,1	18,9	55	6,7
Glverodox.	33	475	2,4	21,6	147	18
Gldigifuc.	33	475	2,4	21,6	138	16,9
D.verum	43	1069	5,4	48,6	75	9,1
Glgitofuc.	49	1426	7,2	64,8	28	3,4
Startfleck	49	1426	7,2	64,8	818 (Σ)	
Sekundärgl.	70	2674	13,5	121,6		
cpm-Summe	757					
Nulleffekt	-425					
Σ	332 ===	19725 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 18f

Lanatosid B (53)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,63 g) (5,75 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	51	749	5	34,2	165	14,9
E	42	489	3,3	22,3	39	3,5
spesid	68	1238	8,3	56,5	35	3,1
B	101	2189	14,7	100	31	2,8
	39	403	2,7	18,4	-	-
C	67	1209	8,1	55,2	60	5,4
atro.	78	1526	10,3	69,7	25	2,2
	50	720	4,8	32,9	-	-
	48	662	4,4	30,2	-	-
anadox.	39	403	2,7	18,4	62	5,6
rob.G	37	345	2,3	15,7	94	8,5
tor.	32	201	1,3	9,2	84	7,6
erodox.	39	403	2,7	18,4	236	21,3
gifuc.	38	374	2,5	17,1	166	15
rum	39	403	2,7	18,4	85	7,7
tofuc.	44	547	3,7	25	<u>24</u>	2,1
tfleck	45	576	3,9	26,3	1106 (Σ)	
andärgl.	109	2419	16,3	110,5		
Summe	966					
effekt	-450					
Σ	<u>516</u> ===	<u>14856</u> =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 19a

Lanatosid C (54)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,9 g) (4,97 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ante am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	40	445	2,6	7,6	142	20,2
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strospesid	-	-	-	-	24	3,4
Lan. B	-	-	-	-	-	-
10a	91	1958	11,6	33,3	-	-
Lan. C	223	5875	34,8	100	50	7,1
Glevatro.	166	4184	27,8	71,2	78	11,1
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	36	326	1,9	5,5	62	8,8
Odorob.G	35	297	1,7	5	33	4,7
Glgitor.	72	1395	8,2	23,7	81	11,5
Glverodox.	-	-	-	-	121	17,2
Gldigifuc.	-	-	-	-	76	10,8
D.verum	-	-	-	-	35	5
Glgitofuc.	-	-	-	-	-	-
Startfleck	34	267	1,6	4,5	702 (Σ)	
Sekundärgl.	97	2136	12,6	36,3		
cpm-Summe	794					
Nulleffekt	-225					
Σ	569	16883				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

lle 19b

Lanatosid C (55)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 10,36 g) (4,97 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100 g %Anteil	
			%	appliz. Glykosid = 100 %	Droge	am GGG ⁺
A	33	417	2,8	9	88	8,7
E	-	-	-	-	-	-
spesid	-	-	-	-	22	2,2
B	-	-	-	-	-	-
	67	2189	14,6	47,2	-	-
C	114	4638	31	100	106	10,5
atro.	62	1928	12,9	41,5	28	2,8
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
nadox.	35	521	3,5	11,2	133	13,2
ob.G	-	-	-	-	33	3,3
tor.	47	1146	7,7	24,7	100	9,9
erodox.	-	-	-	-	225	22,3
gifuc.	-	-	-	-	176	17,5
rum	-	-	-	-	68	6,7
tofuc.	-	-	-	-	<u>27</u>	2,7
rtfleck	31	312	2,1	6,7	1006 (Σ)	
undärgl.	98	3804	25,4	82		
Summe	487					
effekt	-200					
Σ	<u>287</u> ===	<u>14955</u> =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 19c

Lanatosid C (56)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7 g) (4,99 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	55	1052	7,5	28	124	14,2
Lan. E	32	245	1,7	6,5	-	-
Digi pro sid	37	421	3	11,2	-	-
Stros pe sid	75	1753	12,4	46,7	-	-
Lan. B	31	210	1,5	5,6	8	0,9
10a	54	1017	7,2	27	-	-
Lan. C	132	3752	26,6	100	98	11,2
Glevatro.	69	1543	10,9	41,1	20	2,3
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	44	666	4,7	17,7	60	6,8
Odorob.G	32	245	1,7	6,5	59	6,7
Glgitor.	50	877	6,2	23,4	58	6,6
Glverodox.	-	-	-	-	268	30,6
Gldigifuc.	-	-	-	-	115	13,1
D.verum	-	-	-	-	65	7,4
Glgitofuc.	-	-	-	-	-	-
Startfleck	40	526	3,7	14	875 (Σ)	-
Sekundärgl.	76	1788	12,7	47,6		
cpm-Summe	727					
Nulleffekt	-325					
Σ	402	14095				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

lle 19d

Lanatosid C (57)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,9 g) (4,79 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	35	308	3,6	12,2	244	18,5
E	-	-	-	-	-	-
spesid	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	27	2
	51	800	9,3	31,7	-	-
C	107	2525	29,5	100	167	12,7
atro.	69	1355	15,8	53,6	77	5,8
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
nadox.	35	308	3,6	12,2	87	6,6
ob.G	-	-	-	-	76	5,8
tor.	32	215	2,5	8,5	85	6,5
rodox.	-	-	-	-	191	14,5
gifuc.	-	-	-	-	251	19
rum	-	-	-	-	76	5,8
tofuc.	-	-	-	-	36	2,7
tfleck	33	246	2,9	9,7	1317 (Σ)	
ndärgl.	116	2802	32,7	111		
Summe	478					
effekt	-200					
Σ	278	8559				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 19e

Lanatosid C (58)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 8,3 g) (4,85 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ant am G
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	48	983	8	25	163	14,3
Lan. E	-	-	-	-	51	4,5
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	29	2,5
10a	33	342	2,8	8,7	-	-
Lan. C	117	3932	32	100	212	18,5
Glevatro.	44	812	6,6	20,6	16	1,4
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	33	342	2,8	8,7	61	5,3
Lan. D	-	-	-	-	26	2,3
Odorob.G	-	-	-	-	60	5,2
Glgitor.	40	641	5,2	16,3	89	7,8
Glverodox.	-	-	-	-	164	14,3
Gldigifuc.	-	-	-	-	104	9,1
D.verum	-	-	-	-	135	11,8
Glgitofuc.	-	-	-	-	33	2,9
Startfleck	-	-	-	-	1143 (Σ)	
Sekundärgl.	148	5257	42,7	133,7		
cpm-Summe	463					
Nulleffekt	-175					
Σ	288	12309				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 19f

Lanatosid C (59)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,2 g) (5,02 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
. A	45	915	8,7	25,3	155	21,6
. E	-	-	-	-	-	-
ospesid	-	-	-	-	16	2,2
. B	-	-	-	-	19	2,6
	40	686	6,5	19	-	-
. C	104	3614	34,5	100	79	11
vatro.	-	-	-	-	16	2,2
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
anadox.	34	412	3,9	11,4	27	3,8
rob.G	-	-	-	-	66	9,2
itor.	-	-	-	-	27	3,8
erodox.	-	-	-	-	109	15,2
igifuc.	-	-	-	-	118	16,5
erum	-	-	-	-	65	9,1
itofuc.	-	-	-	-	<u>19</u>	2,6
rtfleck	31	275	2,6	7,6	716 (Σ)	
undäugl.	125	4575	43,6	126,6		
-Summe	379					
leffekt	-150					
Σ	<u>229</u> ===	<u>10477</u> =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 19g

Lanatosid C I

	cpm/ 100 µl	cpm/Pflanze (= 5,3 g) (3,99 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g %Ante	
			%	appliz. Glykosid = 100 %	Droge	am GG
Lan. A	38	73	2,2	5,6	136	22,6
Lan. E	31	26	0,8	2	22	3,6
Strospesid	30	20	0,6	1,5	26	4,2
Lan. B	44	113	3,5	8,7	27	4,4
10a	45	120	3,7	9,2	-	-
Lan. C	222	1297	39,9	100	66	11
Glevatro.	45	120	3,7	9,2	13	2,1
8b	39	80	2,4	6,1	-	-
Gllanadox.	65	252	7,7	19,4	45	7,5
Odorob.G	49	146	4,5	11,2	26	4,3
Glgitor.	94	445	13,7	34,3	35	5,8
Glverodox.	31	26	0,8	2	125	20,6
Gldigifuc.	32	33	1	2,5	53	8,7
D.verum	31	26	0,8	2	25	4,2
Glgitofuc.	32	33	1	2,5	5	0,8
Startfleck	44	113	3,5	8,7	604 (Σ)	
Sekundärgl.	76	326	10	25,1		
cpm-Summe	948					
Nulleffekt	-459					
Σ	489	3249				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

lle 19h

Lanatosid C II

	cpm/ 100 µl	cpm/Pflanze (= 1,8 g) (1,52 g $\hat{=}$ 250 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	38	32	1,3	1,8	68	17,2
E	36	26	1	1,5	28	7
spesid	35	23	0,9	1,3	20	5
B	42	44	1,8	2,5	27	6,8
	-	-	-	-	-	-
C	626	1767	72,2	100	76	19,2
atro.	-	-	-	-	-	-
	34	20	0,8	1,1	-	-
nadox.	63	106	4,3	6	25	6,3
ob.G	51	71	2,9	4	17	4,3
tor.	91	189	7,7	10,7	19	4,8
rodox.	34	20	0,8	1,1	51	12,9
gifuc.	32	15	0,6	0,8	35	8,8
rum	33	18	0,7	1	23	5,8
tofuc.	32	15	0,6	0,8	6	1,5
tfleck	41	41	1,6	2,3	395 (Σ)	
ndärgl.	47	59	2,4	3,3		
Summe	1235					
Effekt	-405					
Σ	830	2446				
	===	====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 20a

Glucocovatromonosid (30)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7,1 g) (4,94 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ante am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	49	861	1,7	3,4	88	12,9
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strosposid	36	394	0,8	1,6	28	4,1
Lan. B	-	-	-	-	11	1,6
10a	32	251	0,5	1	-	-
Lan. C	49	861	1,7	3,4	77	11,3
Glevatro.	724	25076	51,1	100	52	7,6
8b	44	681	1,4	2,7	-	-
8a	32	251	0,5	1	-	-
Gllanadox.	55	1076	2,2	4,3	47	6,9
Odorob.G	300	9865	20,1	39,3	47	6,9
Glgitor.	86	2188	4,5	8,7	80	11,7
Glverodox.	39	502	1	2	108	15,8
Gldigifuc.	61	1291	2,6	5,1	80	11,7
D.verum	34	323	0,6	1,3	63	9,2
Glgitofuc.	36	394	0,8	1,6	-	-
Startfleck	56	1112	2,3	4,4	681 (Σ)	-
Sekundärgl.	134	3910	8	15,6		
cpm-Summe	1767					
Nulleffekt -	400					
Σ	1367 =====	49036 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

lle 20b

Glucosylatromonosid (31)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 8,1 g) (5,06 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	47	879	1,7	4	96	9,5
E	-	-	-	-	-	-
spesid	46	839	1,6	3,8	30	3
B	-	-	-	-	-	-
	35	399	0,8	1,8	-	-
C	59	1358	2,7	6,1	119	11,8
atro	581	22212	44,2	100	55	5,5
	39	559	1,1	2,5	-	-
	32	279	0,5	1,2	-	-
nadox.	61	1438	2,9	6,5	85	8,4
ob.G	289	10547	21	47,5	92	9,1
tor.	79	2157	4,3	9,7	62	6,1
rodox.	38	519	1	2,3	196	19,5
gifuc.	80	2197	4,4	9,9	176	17,5
rum	39	559	1,1	2,5	73	7,2
tofuc.	38	519	1	2,3	23	2,3
tfleck	57	1278	2,5	5,7	1007	(Σ)
andärgl.	137	4474	8,9	20,1		
Summe	1657					
effekt - 400						
Σ	1257	50213				
	=====	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 20c

Glucosylatromonosid (32)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 4,3 g) (3,65 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ante am GG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	43	529	2,2	3,3	133	12,8
Lan. E	33	235	1	1,5	26	2,5
Strospeid	37	352	1,4	2,2	42	4
Lan. B	32	205	0,85	1,3	28	2,7
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	42	499	2,1	3,1	78	7,5
Glevatro.	571	16039	66,9	100	42	4
8b	36	323	1,3	2	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	60	1028	4,3	6,4	45	4,3
Odorob.G	30	147	0,6	0,9	26	2,5
Glgitor.	46	617	2,6	3,8	34	3,3
Gilverodox.	33	235	1	1,5	164	15,8
Gldigifuc.	40	440	1,8	2,7	296	28,6
D.verum	36	323	1,3	2	122	11,8
Glgitofuc.	33	235	1	1,5	-	-
Startfleck	41	470	2	2,9	1036 (Σ)	
Sekundärgl.	103	2291	9,5	14,3		
cpm-Summe	1216					
Nulleffekt -	400					
Σ	816	23968				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 20d

Glucosylatromonosid (34)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,46 g) (4,54 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	76	1530	8,1	43,2	129	18,9
E	-	-	-	-	-	-
ospesid	38	390	2	11	26	3,8
B	-	-	-	-	-	-
	31	180	0,95	5,1	-	-
C	35	300	1,6	8,4	63	9,2
vatro.	143	3540	18,7	100	43	6,3
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
anadox.	43	540	2,85	15,25	51	7,5
rob.G	36	330	1,7	9,3	37	5,4
itor.	37	360	1,9	10,1	38	5,5
erodox.	35	300	1,6	8,5	98	14,3
igifuc.	77	1560	8,2	44	128	18,7
erum	35	300	1,6	8,5	52	7,6
itofuc.	31	180	0,95	5,1	18	2,6
rtfleck	43	540	2,85	15,25	683 (Σ)	
undärgl.	321	8880	46,9	250		
-Summe	981					
leffekt	-350					
Σ	631	18930				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 20e

Glucosavatromonosid (33)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 4,8 g) (3,95 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Ante am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	50	759	5,3	19,5	220	19
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strospeid	33	243	1,7	6,2	41	3,5
Lan. B	32	212	1,5	5,4	20	1,7
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	37	364	2,5	9,3	169	14,5
Glevatro.	153	3888	27,2	100	53	4,5
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	44	577	4	14,8	71	6,1
Odorob.G	37	364	2,5	9,3	50	4,3
Glgitor.	36	334	2,3	8,6	63	5,4
Glverodox.	31	182	1,3	4,7	157	13,5
Gldigifuc.	41	486	3,4	12,5	220	19
D.verum	31	182	1,3	4,7	77	6,6
Glgitofuc.	-	-	-	-	19	1,6
Startfleck	32	212	1,5	5,4	1160 (Σ)	
Sekundärgl.	238	6470	45,3	166,4		
cpm-Summe	795					
Nulleffekt	-325					
Σ	470	14273				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

belle 20f

Glucosylatromonosid (35)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,36 g) (5,14 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
n. A	60	1081	5,4	23	268	23,8
n. E	-	-	-	-	-	-
rosipesid	34	278	1,4	5,9	26	2,3
n. B	33	247	1,2	5,2	45	4
a	32	216	1,1	4,6	-	-
n. C	53	865	4,3	18,4	114	10,1
evatro.	177	4695	23,5	100	33	2,9
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
lanadox.	41	494	2,5	10,5	42	3,7
orob.G	35	309	1,5	6,6	73	6,5
gitor.	36	339	1,7	7,2	62	5,5
verodox.	-	-	-	-	189	16,8
digifuc.	39	432	2,2	9,2	191	16,95
verum	31	185	0,9	3,9	64	5,7
gitofuc.	-	-	-	-	20	1,8
artfleck	34	278	1,4	5,9	1127 (Σ)	
kundärgl.	365	10502	52,7	223,7		
m-Summe	970					
lleffekt	-325					
Σ	645	19921				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 21a

Glucogitorosid (14)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,01 g) (5,2 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	112	2513	4,4	6,8	136	18,5
Lan. E	47	635	1,1	1,7	-	-
Strospesid	41	462	0,8	1,2	21	2,8
Lan. B	37	346	0,6	0,95	23	3,1
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	102	13,9
Glevatro.	-	-	-	-	29	3,9
8b	37	346	0,6	0,95	-	-
8a	35	289	0,5	0,8	-	-
Gllanadox.	77	1502	2,6	4,1	37	5
Odorob.G	134	3149	5,5	8,6	27	3,6
Glgitor.	1292	36603	64	100	100	13,6
Glverodox.	177	4391	7,7	12	124	16,9
Gldigifuc.	52	780	1,3	2,1	78	10,6
D.verum	52	780	1,3	2,1	44	6
Glgitofuc.	48	664	1,1	1,8	<u>14</u>	1,9
Startfleck	58	953	1,6	2,6	735 (Σ)	
Sekundärgl.	154	3727	6,5	10,2		
cpm-Summe	2353					
Nulleffekt	-375					
Σ	<u>1978</u> =====	<u>57140</u> =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

belle 21b

Glucogitorosid (13)

	cpm/ 20 μ l	cpm/Pflanze (= 8,28 g) (5,30 g $\hat{=}$ 500 μ l)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
1. A	61	1404	3,9	7,5	91	11,3
1. E	35	390	1,1	2,1	-	-
rosposid	45	780	2,2	4,2	17	2,1
1. B	36	429	1,2	2,3	-	-
1.	-	-	-	-	-	-
1. C	-	-	-	-	41	5,1
evatro.	-	-	-	-	25	3,1
	33	312	0,87	1,6	-	-
	-	-	-	-	-	-
anadox.	117	3588	10	19,2	63	7,8
rob.G	84	2301	6,4	12,3	37	4,6
gitor.	503	18642	52	100	54	6,7
erodox.	105	3120	8,7	16,7	170	21,2
ligifuc.	41	624	1,7	3,3	225	28,1
erum	43	702	1,95	3,7	60	7,5
gitorfuc.	41	624	1,7	3,3	18	2,2
urtfleck	46	819	2,3	4,4	801 (Σ)	
rundärgl.	79	2106	5,9	11,3		
1-Summe	1269					
1-leffekt	-350					
Σ	919	35841				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 21c

Glucogitorosid (17)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,57 g) (5,20 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	76	2343	4,95	9,1	154	13,6
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strospesid	36	505	1	1,9	18	1,6
Lan. B	33	367	0,77	1,4	-	-
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	59	5,2
Glevatro.	-	-	-	-	45	4
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	66	1884	4	7,3	57	5
Odorob.G	99	3400	7,2	13,2	83	7,3
Glgitor.	584	25684	54,3	100	123	10,9
Glverodox.	105	3675	7,7	14,3	301	26,6
Gldigifuc.	42	781	1,6	3	192	17
D.verum	42	781	1,6	3	76	6,7
Glgitofuc.	44	873	1,8	3,4	21	1,8
Startfleck	58	1516	3,2	5,9	1129 (Σ)	
Sekundärgl.	145	5513	11,6	21,4		
cpm-Summe	1330					
Nulleffekt	-300					
Σ	1030	47318				
	=====	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

abelle 21d

Glucogitorosid (15)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,9 g) (5,90 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	77	1518	4,6	11,4	136	15,3
an. E	-	-	-	-	-	-
trospesid	36	321	0,98	2,4	39	4,4
an. B	38	379	1,1	2,8	22	2,5
Da	35	292	0,9	2,2	-	-
an. C	-	-	-	-	96	10,8
levatro.	-	-	-	-	23	2,6
o	39	408	1,2	3,1	-	-
a	37	350	1	2,6	-	-
llanadox.	84	1722	5,2	12,9	48	5,4
lorob.G	102	2247	6,8	16,9	43	4,8
lgitor.	480	13281	40,5	100	67	7,5
lverodox.	132	3123	9,5	23,5	204	23,0
ldigifuc.	43	525	1,6	4	135	15,2
lverum	47	642	1,9	4,8	75	8,4
lgitofuc.	54	846	2,6	6,3	-	-
tartfleck	68	1255	3,8	9,4	888	(Σ)
ekundärgl.	227	5896	18	44,4		
pm-Summe	1499					
alleffekt	-375					
Σ	1124	32805				
	=====	=====				

) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 21e

Glucogitorosid (16)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,27 g) (5,48 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	98	2085	5,5	21,6	69	7,6
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Stros pesid	55	857	2,3	8,9	35	3,9
Lan. B	37	343	0,9	3,5	-	-
10a	34	257	0,7	2,6	-	-
Lan. C	35	285	0,75	2,95	96	10,7
Glevatro.	33	228	0,6	2,3	21	2,3
8b	37	343	0,9	3,5	-	-
8a	34	257	0,7	2,6	-	-
Gllanadox.	81	1600	4,2	16,5	43	4,8
Odorob.G	120	2714	7,2	28,1	47	5,2
Glgitor.	363	9656	25,6	100	56	6,2
Glverodox.	102	2200	5,8	22,8	176	19,6
Gldigifuc.	40	428	1,1	4,4	266	29,6
D.verum	49	685	1,8	7,1	90	10
Glgitofuc.	46	600	1,6	6,2	-	-
Startfleck	64	1114	2,95	11,5	899 (Σ)	
Sekundärgl.	515	13999	37,2	145		
cpm-Summe	1743					
Nulleffekt	-425					
Σ	1318 =====	37651 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Belle 21f

Glucogitorosid (18)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,71 g) (5,06 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
n. A	99	2087	6,9	28,4	198	19,7
n. E	46	592	1,95	8,1	63	6,2
rosipesid	46	592	1,95	8,1	28	2,8
n. B	41	451	1,5	6,1	41	4,1
a	-	-	-	-	-	-
n. C	33	225	0,74	3	63	6,2
evatro.	-	-	-	-	21	2,1
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
lanadox.	43	507	1,7	6,9	32	3,2
prob.G	93	1917	6,3	26,1	74	7,3
gitor.	285	7332	24,2	100	65	6,4
verodox.	76	1438	4,75	19,6	158	15,7
ligifuc.	35	282	0,9	3,8	154	15,3
verum	43	507	1,7	6,9	83	8,2
gitofuc.	43	507	1,7	6,9	26	2,6
artfleck	48	648	2,1	8,8	1006 (Σ)	
kundärgl.	492	13169	43,5	179,6		
n-Summe	1423					
alleffekt	-350					
Σ	1073 =====	30254 =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 21g

Glucogitorosid I

	cpm/ 100 μ l	cpm/Pflanze (= 4 g) (3,12 g $\hat{=}$ 500 μ l)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	39	77	0,6	1,1	128	22,1
Lan. E	55	179	1,4	2,6	14	2,4
Strospesid	40	83	0,67	1,2	28	4,8
Lan. B	55	179	1,4	2,6	17	2,9
Lan. C	46	121	0,98	1,7	28	4,8
Glevatro.	32	32	0,26	0,46	15	2,6
8b	41	89	0,7	1,3	12	2
Gllanadox.	365	2163	17,5	31,4	45	7,8
Odorob.G	107	512	4,1	7,4	24	4,1
Glgitor.	1104	6893	55,7	100	45	7,8
Glverodox.	93	422	3,4	6,1	79	13,6
Gldigifuc.	52	160	1,3	2,3	99	17,1
D.verum	73	294	2,4	4,2	35	6
Glgitofuc.	55	179	1,4	2,6	10	1,7
Startfleck	81	345	2,8	5	579 (Σ)	
Sekundärgl.	127	640	5,2	9,3		
cpm-Summe	2365					
Nulleffekt	-432					
Σ	1933 =====	12368 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 21h

Glucogitorosid II

	cpm/ 100 µl	cpm/Pflanze (= 4,9 g) (3,69 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
. A	35	53	0,63	1,3	118	28
. E	72	299	3,6	7,4	49	11,6
ospesid	37	66	0,8	1,6	16	3,8
. B	58	206	2,5	5,1	42	10
. C	34	46	0,55	1,1	8	1,9
vatro.	36	60	0,7	1,5	9	2,1
	44	113	1,3	2,8	-	-
anadox.	205	1184	14,2	29,3	18	4,3
rob.G	78	339	4	8,4	23	5,4
itor.	634	4036	48,5	100	31	7,3
erodox.	64	246	3	6,1	35	8,3
igifuc.	84	379	4,5	9,4	44	10,4
erum	65	253	3	6,2	23	5,4
itofuc.	51	159	1,9	3,9	<u>5</u>	1,2
rtfleck	87	399	4,8	9,9	421 (Σ)	
undärgl.	99	479	5,7	11,8		
-Summe	1683					
leffekt	-432					
Σ	1251	8317				
	====	====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 22a

Glucolanadoxin (1)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,44 g) (4,81 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	44	536	1,8	9,6	188	18,6
Lan. E	-	-	-	-	31	3
Strospesid	42	479	1,6	8,6	26	2,6
Lan. B	38	367	1,2	6,5	30	3
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	45	564	1,9	10,1	36	3,5
Glevatro.	35	282	0,95	5	18	1,8
8b	40	423	1,4	7,5	-	-
8a	50	705	2,4	12,6	-	-
Gllanadox.	223	5587	18,95	100	47	4,6
Purp.B	171	4120	14	73,7	54	5,3
Odorob.G	64	1100	3,7	19,7	46	4,5
Glgitor.	329	8579	29,1	153,5	74	7,3
Glverodox.	53	790	2,7	14,1	177	17,5
Gldigifuc.	44	536	1,8	9,6	197	19,5
D.verum	40	423	1,4	7,5	66	6,5
Glgitofuc.	42	479	1,6	8,6	20	2
Startfleck	59	959	3,25	17,1	1010 (Σ)	
Sekundärgl.	151	3555	12	63,6		
cpm-Summe	1470					
Nulleffekt	-425					
Σ	1045 =====	29484 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

abelle 22b

Glucolanadoxin (2)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,23 g) (5,46 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
un. A	42	484	1,8	10	164	26,5
un. E	-	-	-	-	-	-
rospesid	36	313	1,2	6,5	24	3,9
un. B	41	455	1,7	9,4	25	4
0a	-	-	-	-	-	-
un. C	37	342	1,3	7,1	10	1,6
evatro.	42	484	1,8	10	11	1,8
	36	313	1,2	6,5	-	-
	48	655	2,5	13,6	-	-
lanadox.	194	4813	18,3	100	20	3,2
rp.B	184	4528	17,2	94	29	4,7
orob.G	65	1139	4,3	23,6	42	6,8
gitor.	291	7575	28,9	157,4	56	9
verodox.	52	769	2,9	16	84	13,6
digifuc.	39	398	1,5	8,2	94	15,2
verum	38	370	1,4	7,7	49	7,9
gitofuc.	38	370	1,4	7,7	<u>10</u>	1,6
artfleck	58	939	3,6	19,5	618	(Σ)
ekundärgl.	105	2278	8,7	47,3		
om-Summe	1346					
alleffekt	-425					
Σ	921	26225				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 22c

Glucolanadoxin (3)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 11,26 g) (5,25 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	-	-	-	-	52	6,8
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strospezid	-	-	-	-	19	2,5
Lan. B	-	-	-	-	20	2,6
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	63	8,2
Glevatro.	-	-	-	-	17	2,2
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	87	3322	15,4	100	35	4,6
Purp.B	103	4180	19,3	125,8	-	-
Odorob.G	44	1018	4,7	30,6	32	4,2
Glgitor.	121	5144	23,8	154,8	66	8,6
Glverodox.	62	1982	9,1	59,6	159	20,8
Gldigifuc.	35	536	2,5	16,1	164	21,4
D.verum	36	589	2,7	17,7	96	12,5
Glgitofuc.	40	804	3,7	24,2	<u>42</u>	5,5
Startfleck	50	1339	6,2	40,3	765 (Σ)	
Sekundärgl.	75	2679	12,4	80,6		
cpm-Summe	653					
Nulleffekt -	250					
Σ	403	21593				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

lle 22d

Glucolanadoxin (4)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,1 g) (5,43 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
A	42	712	5,3	26,1	97	15,5
E	-	-	-	-	40	6,4
spesid	36	461	3,5	16,9	35	5,6
B	34	377	2,8	13,8	32	5,1
	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	40	6,4
atro.	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
nadox.	90	2723	20,5	100	38	6,1
ob.G	-	-	-	-	35	5,6
tor.	56	1298	9,8	47,6	39	6,2
rodox.	33	335	2,5	12,3	77	12,3
gifuc.	-	-	-	-	105	16,8
rum	39	586	4,4	21,5	68	10,8
tofuc.	39	586	4,4	21,5	<u>20</u>	3,2
tfleck	44	796	6	29,2	626 (Σ)	
ndärgl.	154	5403	40,7	198,4		
Summe	567					
effekt	-250					
Σ	317	13277				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 22e

Glucolanadoxin (6)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,82) (5,28 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	46	975	5,5	23,1	185	21,3
Lan. E	-	-	-	-	44	5
Strospeid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	22	2,5
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	122	14
Glevatro.	-	-	-	-	10	1,1
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	116	4224	23,7	100	37	4,2
Odorob. G	-	-	-	-	66	7,6
Glgitor.	87	2878	16,2	68,1	42	4,8
Glverodox.	36	510	2,8	12,1	134	15,4
Gldigifuc.	35	464	2,6	11	147	16,9
D.verum	42	789	4,4	18,6	41	4,7
Glgitofuc.	41	743	4,2	17,6	18	2,1
Startfleck	45	928	5,2	21,9	868 (Σ)	
Sekundärgl.	160	6266	35,2	148,3		
cpm-Summe	608					
Nulleffekt	-225					
Σ	383	17777				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

elle 22f

Glucolanadoxin (5)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,26 g) (5,39 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
. A	48	987	4,4	26,1	79	10,8
. E	-	-	-	-	-	-
ospesid	41	687	3,1	18,2	27	3,7
. B	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
. C	-	-	-	-	12	1,6
evatro.	-	-	-	-	24	3,3
	-	-	-	-	-	-
	37	515	2,3	13,6	-	-
anadox.	113	3778	16,9	100	45	6,1
p.B	49	1030	4,6	27,2	-	-
rob.G	43	773	3,4	20,4	66	9
itor.	88	2704	12,1	71,6	56	7,6
erodox.	-	-	-	-	104	14,2
igifuc.	36	472	2,1	12,5	231	31,6
erum	40	644	2,9	17	69	9,4
itofuc.	40	644	2,9	17	18	2,4
rtfleck	45	858	3,8	22,7	731	(Σ)
undärgl.	241	9273	41,4	245,4		
-Summe	821					
leffekt	-300					
Σ	521	22365				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 23a

Glucodigifucosid (7)

	cpm/ 20 μ l	cpm/Pflanze (= 6 g) (5,0 g $\pm$ 500 μ l)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	53	833	1,1	1,35	99	11,2
Lan. E	-	-	-	-	37	4,2
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	22	2,5
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	99	11,2
Glevatro.	-	-	-	-	15	1,7
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	35	297	0,4	0,5	34	3,8
Lan. D	-	-	-	-	13	1,5
Odorob.G	-	-	-	-	26	2,9
Glgitor.	-	-	-	-	28	3,1
Glverodox.	245	6547	8,8	10,6	125,6	14,2
Gldigifuc.	2100	61756	83	100	226,5	25,6
D.verum	130	3125	4,2	5,1	88,5	10
Glgitofuc.	47	655	0,88	1,1	<u>23</u>	2,6
Startfleck	68	1280	1,7	2,1	885,6	(Σ)
Sekundärchl.	-	-	-	-		
cpm-Summe	2678					
Nulleffekt	-175					
Σ	<u>2503</u> =====	<u>74493</u> =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

belle 23b

Glucodigifucosid (8)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7,7 g) (5,00 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
n. A	44	731	1,8	2,2	193	23,8
n. E	-	-	-	-	-	-
rosipesid	-	-	-	-	-	-
n. B	-	-	-	-	16,5	2
a	-	-	-	-	-	-
n. C	-	-	-	-	41	5
evatro.	-	-	-	-	43	5,3
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
lanadox.	-	-	-	-	47	5,8
n. D	-	-	-	-	-	-
prob.G	-	-	-	-	30,5	3,8
gitor.	-	-	-	-	55	6,8
verodox.	100	2888	7,2	8,8	203	25
ligifuc.	880	32918	81,7	100	110	13,6
verum	102	2965	7,3	9	70	8,6
gitofuc.	-	-	-	-	-	-
rtfleck	45	770	1,9	2,3	809	(Σ)
rundärgl.	-	-	-	-	-	-
n-Summe	1171					
leffekt	-125					
Σ	1046	40272				
	====	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 23c

Glucodigifucosid (9)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7,5 g) (5,07 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	65	1479	2,35	2,85	68,4	6
Lan. E	-	-	-	-	43,7	3,8
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	37,4	3,2
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	86,5	7,5
Glevatro.	-	-	-	-	10	0,87
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	33	296	0,5	0,57	37	3,2
Lan.D	-	-	-	-	24	2,1
Odorob.G	-	-	-	-	54	4,7
Glgitor.	-	-	-	-	23	2
Glverodox.	84	2182	3,5	4,2	292	25,5
Gldigifuc.	1430	51960	82,7	100	300	26,2
D.verum	154	4770	7,6	9,2	142	12,4
Glgitofuc.	34	333	0,53	0,64	26	2,3
Startfleck	59	1257	2	2,4	1144 (Σ)	
Sekundärgl.	40	555	0,9	1		
cpm-Summe	1899					
Nulleffekt	-200					
Σ	1699 =====	62832 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

abelle 23d

Glucodigifucosid (10)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9 g) (5,29 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	50	1063	1,9	2,2	72	6,6
an. E	-	-	-	-	25,3	2,3
trospesid	-	-	-	-	21	1,9
an. B	-	-	-	-	25,7	2,4
Oa	-	-	-	-	-	-
an. C	-	-	-	-	136,5	12,6
levatro.	-	-	-	-	17,6	1,6
b	-	-	-	-	-	-
a	-	-	-	-	-	-
llanadox.	-	-	-	-	55	5
an. D	-	-	-	-	34	3,1
odorob.G	-	-	-	-	34	3,1
lgitor.	-	-	-	-	76	7
lverodox.	81	2382	4,35	5	219	20,2
ldigifuc.	1140	47424	86,6	100	209	19,3
O.verum	64	1659	3	3,5	121	11,1
lgitifuc.	40	638	1,16	1,35	38,4	3,5
Startfleck	62	1574	2,9	3,3	1084,5	(Σ)
Sekundärgl.	-	-	-	-		
cpm-Summe	1437					
Nulleffekt	-150					
Σ	1287	54740				
	=====	=====				

(+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 23e

Glucodigifucosid (11)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 14,1 g) (5,34 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	34	594	0,93	1,1	26	4,7
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	-	-
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	-	-
Glevatro.	-	-	-	-	25	4,5
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	-	-	-	-	40	7,2
Lan. D	-	-	-	-	-	-
Odorob.G	-	-	-	-	37	6,7
Glgitor.	-	-	-	-	35	6,3
Glverodox.	118	6139	9,6	11,8	131	23,8
Gldigifuc.	816	52215	82,2	100	180	32,6
D.verum	50	1650	2,6	3,2	55	10
Glgitofuc.	34	594	0,93	1,1	<u>22</u>	4
Startfleck	60	2310	3,6	4,4	551 (Σ)	
Sekundärgl.	-	-	-	-		
cpm-Summe	1112					
Nulleffekt	-150					
Σ	962	63502				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

belle 23f

Glucodigifucosid (12)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 11,8 g) (5,02 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
n. A	53	1645	2,9	4,1	109	16,9
n. E	32	411	0,73	1	-	-
rosipesid	33	470	0,84	1,2	-	-
n. B	-	-	-	-	-	-
a	-	-	-	-	-	-
n. C	-	-	-	-	43	6,6
evatro.	-	-	-	-	12	1,8
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
lanadox.	-	-	-	-	29	4,5
n. D	-	-	-	-	-	-
orob.G	-	-	-	-	44	6,8
gitor.	-	-	-	-	36	5,6
verodox.	88	3702	6,6	9,2	111	17,2
digifuc.	708	40136	71,5	100	153	23,7
verum	100	4407	7,85	11	88	13,6
gitofuc.	50	1470	2,6	3,7	21	3,2
artfleck	66	2409	4,3	6	646 (Σ)	
kundärgl.	50	1470	2,6	3,7		
ym-Summe	1180					
alleffekt-	225					
Σ	955	56120				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 23g

Glucodigifucosid I

	cpm/ 60 μ l	cpm/Pflanze (= 5,5 g) (3,89 g $\hat{=}$ 500 μ l)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	36	106	0,4	0,6	104	13
Lan. E	31	47	0,2	0,25	25	3,1
Strospesid	-	-	-	-	20	2,5
Lan. B	-	-	-	-	47	5,9
Lan. C	33	70	0,3	0,38	218	27,4
Glevatro.	-	-	-	-	-	-
8b	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	38	129	0,5	0,7	61	7,7
Lan. D	-	-	-	-	11	1,4
Odorob.G	33	70	0,3	0,38	16	2
Glgitor.	35	94	0,4	0,5	76	9,5
Glverodox.	475	5268	21,2	28,5	94	11,8
Gldigifuc.	1596	18451	74,4	100	89	11,2
D.verum	62	411	1,6	2,2	34	4,3
Glgitofuc.	-	-	-	-	-	-
Startfleck	-	-	-	-	795 (Σ)	
Sekundärgl.	40	153	0,6	0,8		
cpm-Summe	2379					
Nulleffekt	-270					
Σ	2109 =====	24799 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

belle 23h

Glucodigifucosid II

	cpm/ 60 µl	cpm/Pflanze (= 3,9 g) (2,98 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
n. A	42	162	0,9	1,3	141	19,8
n. E	38	119	0,67	1	66	9,3
rosipesid	-	-	-	-	-	-
n. B	35	86	0,5	0,7	50	7
n. C	35	86	0,5	0,7	140	19,7
evatro.	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
lanadox.	32	54	0,3	0,44	18	2,5
n. D	-	-	-	-	10	1,4
orob.G	34	76	0,4	0,6	26	3,6
gitor.	-	-	-	-	-	-
verodox.	285	2794	15,7	22,8	66	9,3
digifuc.	1157	12237	68,9	100	130	18,3
verum	136	1180	6,6	9,6	42	5,9
gitofuc.	82	595	3,3	4,8	<u>22</u>	3,1
artfleck	52	271	1,5	2,2	711 (Σ)	
kundärgl.	37	108	0,6	0,9		
m-Summe	1965					
llefekt	-324					
Σ	1641 =====	17768 =====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 23j

Glucodigifucosid III

	cpm/ 60 μ l	cpm/Pflanze (= 4,9 g) (3,65 g $\hat{=}$ 500 μ l)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	35	89	0,3	0,39	86	12,8
Lan. E	-	-	-	-	43	6,4
Strospesid	-	-	-	-	21	3,1
Lan. B	-	-	-	-	59	8,8
Lan. C	-	-	-	-	67	10
Glevatro.	36	100	0,34	0,43	7	1
8b	36	100	0,34	0,43	28	4,2
Gllanadox.	49	245	0,84	1	36	5,4
Lan. D	-	-	-	-	11	1,6
Odorob.G	35	89	0,3	0,39	27	4
Glgitor.	32	56	0,2	0,24	21	3,1
Glverodox.	423	4419	15,1	19,3	94	14
Gldigifuc.	2081	22922	78,4	100	125	18,6
D.verum	92	725	2,5	3,2	35	5,2
Glgitofuc.	36	100	0,34	0,43	10	1,5
Startfleck	63	402	1,4	1,7	670 (Σ)	
Sekundärgl.	-	-	-	-		
cpm-Summe	2918					
Nulleffekt	-297					
Σ	2621 =====	29247 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

abelle 24a

Glucogitofucosid (20)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 4,14 g) (3,41 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil an GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	32	212	0,97	1,9	139	16
an. E	-	-	-	-	-	-
trospesid	-	-	-	-	27	3,1
an. B	-	-	-	-	-	-
0a	32	212	0,97	1,9	-	-
an. C	-	-	-	-	45	5,2
levatro.	32	212	0,97	1,9	28	3,2
b	-	-	-	-	-	-
a	-	-	-	-	-	-
llanadox.	33	243	1,1	2,2	78	9
dorob.G	-	-	-	-	48	5,5
lgitor.	33	243	1,1	2,2	73	8,4
lverodox.	47	668	3	6	187	21,5
ldigifuc.	43	546	2,5	4,9	135	15,5
.verum	165	4249	19,4	37,9	82	9,4
lgitofuc.	394	11200	51,2	100	26	3
tartfleck	152	3854	17,6	34,4	868 (Σ)	
ekundärgl.	33	243	1,1	2,2		
pm-Summe	996					
ulleffekt	-275					
Σ	721	21882				
	===	=====				

) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 24b

Glucogitofucosid (19)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,65 g) (5,1 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	-	-	-	-	195	24,2
Lan. E	-	-	-	-	49	6,1
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	33	4,1
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	22	2,7
Glevatro.	-	-	-	-	13	1,6
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	32	330	1,6	4,5	38	4,7
Odorob. G	91	3117	15,1	42,6	30	3,7
Glgitor.	51	1228	6	16,8	26	3,2
Glverodox.	48	1086	5,3	14,8	204	25,3
Gldigifuc.	32	330	1,6	4,5	98	12,2
D.verum	87	2928	14,2	40	80	9,9
Glgitofuc.	180	7320	35,5	100	17	2,1
Startfleck	107	3872	18,8	52,9	805 (Σ)	
Sekundärgl.	33	378	1,8	5,1		
cpm-Summe	661					
Nulleffekt	-225					
Σ	436	20589				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

belle 24c

Glucogitofucosid (21)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,1 g) (4,25 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
n. A	35	300	1,6	4,1	197	18,3
n. E	-	-	-	-	-	-
rosipesid	32	210	1,1	2,9	28	2,6
n. B	-	-	-	-	21	2
a	34	270	1,5	3,7	-	-
n. C	-	-	-	-	77	7,1
evatro.	-	-	-	-	27	2,5
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
lanadox.	35	300	1,6	4,1	51	4,7
prob.G	75	1500	8,1	20,7	74	6,9
gitor.	39	420	2,3	5,8	43	4
verodox.	42	510	2,8	7	200	18,6
ligifuc.	40	450	2,4	6,2	220	20,5
verum	122	2910	15,8	40,2	112	10,4
gitofuc.	266	7230	39,2	100	<u>25</u>	2,3
artfleck	161	4080	22,1	56,4	1075 (Σ)	
kundärgl.	34	270	1,5	3,7		
n-Summe	915					
lleffekt	-300					
Σ	615	18450				
	===	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 24d

Glucogitofucosid (22)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 8,4 g) (4,88 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Ian. A	34	386	2,6	7,1	161	16,6
Ian. E	-	-	-	-	-	-
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Ian. B	-	-	-	-	36	3,7
10a	-	-	-	-	-	-
Ian. C	-	-	-	-	113	11,7
Glevatro.	-	-	-	-	32	3,3
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	31	258	1,8	4,7	84	8,7
Odoorob.G	-	-	-	-	26	2,7
Glgitor.	-	-	-	-	72	7,4
Glverodox.	40	644	4,4	11,9	163	16,9
Gldigifuc.	37	515	3,5	9,5	162	16,8
D.verum	87	2663	18,2	49,2	90	9,3
Glgitofuc.	151	5412	37	100	<u>27</u>	2,8
Startfleck	124	4252	29	78,5	966 (Σ)	
Sekundärgl.	37	515	3,5	9,5		
cpm-Summe	541					
Nulleffekt	-200					
Σ	<u>341</u> ===	<u>14645</u> =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 24e

Glucogitofucosid (23)

	mg/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7,4 g) (4,87 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100 Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Can. A	38	493	3,2	10,4	157	20,7
Can. E	-	-	-	-	48	6,3
Strospesid	-	-	-	-	-	-
MOa	-	-	-	-	-	-
Can. B	-	-	-	-	33	4,4
Can. C	31	227	1,5	4,8	38	5
Glevatro.	-	-	-	-	-	-
Bb	-	-	-	-	-	-
Ba	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	33	303	2	6,4	102	13,5
Odorob.G	-	-	-	-	32	4,2
Glgitor.	33	303	2	6,4	67	8,8
Glverodox.	43	683	4,5	14,4	108	14,3
Gldigifuc.	38	493	3,2	10,4	80	10,6
D.verum	102	2920	19,1	61,6	70	9,2
Glgitofuc.	150	4740	31	100	21	2,8
Startfleck	134	4134	27	87,2	756	(Σ)
Sekundärgl.	51	986	6,4	20,8		
cpm-Summe	653					
Nulleffekt	-250					
Σ	403	15282				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 25a

Odorobiosid G (24)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,8 g) (4,82 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	39	420	1,2	1,5	61	7,9
Lan. E	-	-	-	-	23	3
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	15	2
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	67	8,7
Glevatro.	-	-	-	-	10	1,3
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	36	330	0,9	1,2	45	5,8
Lan. D	55	900	2,5	3,2	-	-
Odorob.G	964	28170	79,6	100	86	11,2
Glgitor.	90	1950	5,5	6,9	39	5,1
Glverodox.	53	840	2,4	3	193	25,1
Gldigifuc.	40	450	1,3	1,6	96	12,5
D.verum	44	570	1,6	2	98	12,7
Glgitofuc.	37	360	1	1,3	36	4,7
Startfleck	46	630	1,8	2,2	769 (Σ)	
Sekundärgl.	50	750	2,1	2,7		
cpm-Summe	1454					
Nulleffekt	-275					
Σ	1179 =====	35370 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

abelle 25b

Odorobiosid G (25)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,4 g) (5,18 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	48	710	2	3,4	136	16,6
an. E	-	-	-	-	-	-
trospesid	-	-	-	-	-	-
an. B	33	247	0,7	1,2	8	1
Da	-	-	-	-	-	-
an. C	35	309	0,9	1,5	63	7,7
levatro.	33	247	0,7	1,2	29	3,5
b	33	247	0,7	1,2	-	-
a	34	278	0,8	1,3	-	-
llanadox.	65	1235	3,5	5,9	48,7	5,9
an. D	75	1544	4,3	7,3	-	-
lorob.G	708	21087	59	100	75	9,1
lgitor.	137	3458	9,7	16,4	35	4,3
lverodox.	110	2624	7,3	12,4	176,6	21,5
ldigifuc.	42	525	1,5	2,5	183	22,3
lverum	43	556	1,6	2,6	66	8
lgitofuc.	42	525	1,5	2,5	-	-
tartfleck	56	957	2,7	4,5	820,3 (Σ)	
ekundärgl.	64	1204	3,4	5,7		
om-Summe	1558					
ulleffekt	-400					
Σ	1158	35753				
	====	=====				

GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 25c

Odorobiosid G (27)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 4,84 g) (4,01 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	49	724	2,7	3,56	260	27,6
Lan. E	-	-	-	-	39	4,1
Strosposid	34	271	1	1,3	22	2,3
Lan. B	39	422	1,6	2,1	33	3,5
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	-	-
Glevatro.	37	362	1,4	1,8	45	4,8
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	38	392	1,5	1,9	57	6
Lan. D	-	-	-	-	-	-
Odorob.G	699	20338	76,9	100	96	10,2
Glgitor.	63	1147	4,3	5,6	61	6,5
Glverodox.	50	754	2,85	3,7	165	17,5
Gldigifuc.	33	241	0,9	1,2	103	10,9
D.verum	34	272	1	1,3	62	6,6
Glgitofuc.	33	241	0,9	1,2	-	-
Startfleck	41	483	1,8	2,4	943	(Σ)
Sekundärgl.	52	815	3,1	4,0		
cpm-Summe	1202					
Nulleffekt	-325					
Σ	877	26462				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 25d

Odorobiosid G (28)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 8,8 g) (4,89 g $\approx$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	40	675	2,2	2,7	88	12,7
Lan. E	-	-	-	-	29	4,2
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	24	3,5
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	-	-
Glevatro.	-	-	-	-	10	1,4
Bb	-	-	-	-	-	-
Ba	-	-	-	-	-	-
Ellanadox.	-	-	-	-	42	6,1
Lan. D	45	900	3	3,5	-	-
Odorob.G	561	25245	83,2	100	68	9,8
Flgitor.	40	675	2,2	2,7	42	6,1
Flverodox.	-	-	-	-	135	19,5
Fldigifuc.	-	-	-	-	174	25,2
O.verum	33	360	1,2	1,4	91	13,2
Flgitofuc.	35	450	1,5	1,8	<u>27</u>	3,9
Startfleck	42	765	2,5	3	690 (Σ)	
Sekundärgl.	53	1260	4,1	5		
cpm-Summe	849					
Nulleffekt	-200					
Σ	<u>649</u> ===	<u>30330</u> =====				

-) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 25e

Odorobiosid G (29)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 4,8 g) (3,89 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	45	615	2,2	2,7	123	17,8
Lan. E	-	-	-	-	32	4,6
Strospesid	-	-	-	-	-	-
Lan. B	-	-	-	-	20	2,9
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	73	10,5
Glevatro.	-	-	-	-	7	1
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	-	-	-	-	24	3,5
Lan. D	-	-	-	-	-	-
Odorob.G	760	22600	82,1	100	102	14,7
Glgitor.	51	799	2,9	3,5	20	2,9
Glverodox.	35	308	1,1	1,4	76	11
Gldigifuc.	35	308	1,1	1,4	119	17,2
D.verum	37	369	1,3	1,6	73	10,5
Glgitofuc.	39	430	1,5	1,9	<u>22</u>	3,2
Startfleck	47	676	2,5	3	691 (Σ)	
Sekundärgl.	71	1415	5,1	6,3		
cpm-Summe	1120					
Nulleffekt	-225					
Σ	895	27520				
	===	=====				

⁺) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 25f

Odorobiosid G (26)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 10,24 g) (4,92 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	47	1145	4,5	6	110	15,25
an. E	36	573	2,3	3	53	7,3
strosposid	-	-	-	-	16	2,2
an. B	-	-	-	-	31	4,3
Oa	-	-	-	-	-	-
an. C	-	-	-	-	110	15,25
levatro.	-	-	-	-	-	-
b	-	-	-	-	-	-
a	-	-	-	-	-	-
llanadox.	-	-	-	-	69	9,6
an. D	-	-	-	-	27	3,7
odorob.G	393	19136	76,3	100	32	4,4
lgitor.	46	1092	4,3	5,7	53	7,3
lverodox.	-	-	-	-	100	13,9
ldigifuc.	-	-	-	-	56	7,7
.verum	-	-	-	-	64	8,9
lgitofuc.	-	-	-	-	-	-
tartfleck	36	573	2,3	3	721	(Σ)
ekundärgl.	74	2548	10,2	13,3		
pm-Summe	632					
ulleeffekt	-150					
Σ	482	25067				
	===	=====				

) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26a

Digitalinum verum (38)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 4,61 g) (4,13 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	35	279	1,2	2,5	109	10,4
Lan. E	-	-	-	-	28	2,7
Strospesid	34	251	1,1	2,3	25	2,4
Lan. B	-	-	-	-	-	-
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	84	8
Glevatro.	-	-	-	-	30	2,9
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	-	-	-	-	60	5,7
Oderob.G	-	-	-	-	50	4,8
Glgitor.	-	-	-	-	69	6,6
Glverodox.	68	1199	5,4	11	240	23
Gldigifuc.	268	6777	30,6	62	199	19,1
D.verum	416	10905	49,3	100	116	11,1
Glgitofuc.	86	1701	7,7	15,6	<u>32</u>	3,1
Startfleck	61	1004	4,5	9,2	1042	(Σ)
Sekundärgl.	-	-	-	-		
cpm-Summe	968					
Nulleffekt	-175					
Σ	793	22116				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26b

Digitalinum verum (36)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,06 g) (4,61 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	60	959	2,8	6,3	166	14,9
Lan. E	34	246	0,7	1,6	-	-
Strospeid	39	383	1,1	2,5	34	3
Lan. B	-	-	-	-	31	2,8
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	143	12,8
Glevatro.	-	-	-	-	22	2
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	-	-	-	-	48	4,3
Odorob.G	-	-	-	-	40	3,6
Glgitor.	36	301	0,9	2	64	5,7
Glverodox.	128	2823	8,2	18,6	232	20,8
Gldigifuc.	377	9648	28,2	63,5	187	16,7
D.verum	579	15185	44,4	100	123	11
Glgitofuc.	104	2165	6,3	14,2	<u>26</u>	2,3
Startfleck	94	1891	5,5	12,4	1116	(Σ)
Sekundärgl.	46	575	1,7	3,8		
cpm-Summe	1497					
Nulleffekt	-250					
Σ	1247	34176				
	====	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26c

Digitalinum verum (37)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 7,35 g) (6,27 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	68	1259	3,1	7,1	97	10,9
Lan. E	-	-	-	-	-	-
Strospeid	42	498	1,2	2,8	26	2,9
Lan. B	-	-	-	-	23	2,6
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	83	9,3
Glevatro.	-	-	-	-	32	3,6
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	-	-	-	-	38	4,3
Odorob.G	-	-	-	-	41	4,6
Glgitor.	34	263	0,65	1,5	60	6,7
Glverodox.	141	3396	8,4	19,3	173	19,5
Gldigifuc.	416	11448	28,3	65,1	166	18,7
D.verum	625	17568	43,5	100	97	10,9
Glgitofuc.	131	3103	7,7	17,6	<u>23</u>	2,6
Startfleck	97	2108	5,2	12	859	(Σ)
Sekundärgl.	51	761	1,9	4,3		
cpm-Summe	1605					
Nulleffekt	-225					
Σ	1380	40404				
	=====	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26d

Digitalinum verum (39)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 6,47 g) (5,59 g ± 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	35	289	1,2	2,8	69	7,8
an. E	-	-	-	-	-	-
Strosposid	37	347	1,4	3,4	45	5,1
an. B	-	-	-	-	-	-
Oa	-	-	-	-	-	-
an. C	-	-	-	-	75	8,5
levatro.	-	-	-	-	-	-
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
llanadox.	-	-	-	-	38	4,3
odorob.G	-	-	-	-	53	6
lgitor.	-	-	-	-	55	6,2
lverodox.	86	1764	7,4	17,4	173	19,6
ldigifuc.	278	7316	30,9	72,1	217	24,6
O.verum	376	10151	42,8	100	126	14,3
lgitofuc.	86	1764	7,4	17,4	<u>30</u>	3,4
Startfleck	77	1503	6,3	14,8	881 (Σ)	
Sekundärgl.	44	549	2,3	5,4		
cpm-Summe	1019					
Nulleffekt	-200					
Σ	819 ===	23683 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26e

Digitalinum verum (41)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 9,29 g) (5,31 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	59	1486	4,7	13,1	82	10,9
Lan. E	37	524	1,6	4,6	36	4,7
Strosposid	45	874	2,8	7,7	17	2,2
Lan. B	39	612	1,9	5,4	-	-
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	129	17,1
Glevatro.	-	-	-	-	22	2,9
8b	-	-	-	-	-	-
8a	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	-	-	-	-	57	7,5
Odorob.G	-	-	-	-	37	4,9
Glgitor.	-	-	-	-	53	7
Glverodox.	80	2404	7,6	21,1	138	18,3
Gldigifuc.	219	8479	27	74,6	107	14,2
D.verum	285	11364	36,1	100	76	10
Glgitofuc.	70	1967	6,2	17,3	-	-
Startfleck	73	2098	6,6	18,4	-	-
Sekundärgl.	62	1617	5,1	14,2	754 (Σ)	
cpm-Summe	969					
Nulleffekt	-250					
Σ	719	31425				
	===	=====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26f

Digitalinum verum (40)

	cpm/ 20 µl	cpm/Pflanze (= 5,92 g) (5,15 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	68	1235	3,5	10	100	11,2
Lan. E	41	460	1,3	3,7	46	5,1
Strospeid	46	603	1,7	4,8	26	2,9
Lan. B	36	316	0,9	2,5	15	1,6
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	-	-	-	-	111	12,4
Glevatro.	-	-	-	-	10	1,1
Bb	-	-	-	-	-	-
Ba	-	-	-	-	-	-
Gllanadox.	36	316	0,9	2,5	66	7,4
Odorob.G	-	-	-	-	41	4,6
Glgitor.	38	373	1,1	3	62	6,9
Gilverodox.	149	3563	10,2	28,7	149	16,6
Gldigifuc.	368	9857	28,3	79,6	170	19
O.verum	456	12387	35,5	100	73	8,1
Glgitofuc.	96	2040	5,8	16,5	<u>26</u>	2,9
Startfleck	112	2500	7,2	20,2	895 (Σ)	
Sekundärgl.	67	1207	3,4	9,7		
cpm-Summe	1513					
Nulleffekt	-300					
Σ	1213 =====	34857 =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 26g

Digitalinum verum I

	cpm/ 100 µl	cpm/Pflanze (= 2,3 g) (1,79 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
Lan. A	41	89	0,3	0,5	129	20
Lan. E	37	64	0,2	0,38	32	5
Strospesid	40	83	0,3	0,5	32	5
Lan. B	35	51	0,2	0,3	30	4,6
10a	-	-	-	-	-	-
Lan. C	39	77	0,28	0,46	100	15,5
Glevatro.	50	147	0,5	0,89	14	2,2
8b	36	57	0,2	0,34	28	4,3
Gllanadox.	42	96	0,3	0,58	48	7,4
Lan. D	45	115	0,4	0,7	-	-
Odorob.G	84	365	1,3	2,2	12	1,8
Glgitor.	68	262	0,95	1,6	29	4,5
Glverodox.	685	4211	15,2	25,5	59	9,1
Gldigifuc.	420	2515	9,1	15,2	65	10
D.verum	2609	16525	59,7	100	56	8,7
Glgitofuc.	303	1766	6,4	10,7	<u>11</u>	1,7
Startfleck	224	1261	4,5	7,6	645	(Σ)
Sekundärgl.	-	-	-	-		
cpm-Summe	4758					
Nulleffekt	-432					
Σ	<u>4326</u> =====	<u>27684</u> =====				

+) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

abelle 26h

Digitalinum verum II

	cpm/ 100 µl	cpm/Pflanze (= 5,1 g) (3,71 g $\hat{=}$ 500 µl)	Verteilung der Aktivität		mg/100g Droge	%Anteil am GGG ⁺)
			%	appliz. Glykosid = 100 %		
an. A	38	75	0,4	0,66	110	24
an. E	33	41	0,2	0,36	36	7,8
trospesid	36	62	0,34	0,55	28	6,1
an. B	34	48	0,26	0,42	40	8,7
Oa	-	-	-	-	-	-
an. C	30	20	0,1	0,18	11	2,4
levatro.	31	27	0,15	0,24	5	1,1
b	30	20	0,1	0,18	15	3,3
llanadox.	42	103	0,56	0,9	60	13,1
an. D	32	34	0,19	0,3	-	-
dorob.G	44	116	0,64	1	16	3,5
lgitor.	55	192	1	1,7	19	4,1
lverodox.	360	2281	12,5	20,2	42	9,2
ldigifuc.	275	1699	9,3	15	41	9
.verum	1674	11282	62	100	29	6,3
lgitofuc.	164	938	5,1	8,3	<u>5</u>	1,1
tartfleck	204	1212	6,6	10,7	457 (Σ)	
ekundärgl.	35	55	0,3	0,49		
pm-Summe	3117					
ulleffekt	-459					
Σ	2658	18205				
	=====	=====				

) GGG = Gesamtglykosidgehalt (Σ)

Tabelle 27a

Applizierte und wiedergefundene Aktivität
von Verunreinigungen

V. = Verunreinigung	applizierte Aktivität (cpm/Pfl.)	gefundene Akt. (cpm/Pfl.)	gefundener %Anteil
---------------------	-------------------------------------	------------------------------	-----------------------

Lanatosid C

V. Glevatro.

54	5405	4184	77,4
55	5170	1928	37,3
56	3995	1543	38,6
57	3760	1355	36
58	4700	812	17,3
59	5170	-	0

V. Glucodigitoxige-

ninbisdigitoxosid

54	2599	1958	75,3
55	2486	2190	88
56	1920	1017	52,9
57	1808	800	44,2
58	2260	342	15,1
59	2486	686	27,6

Lanatosid B

V. Strospesid

48	1810	1533	84,8
49	1810	1800	99,5
50	1810	2320	128,5
51	1990	1320	66,2
52	1810	1664	92
53	1810	1240	68,4

belle 27b

= Verunreinigung	applizierte Aktivität (cpm/Pfl.)	gefundene Akt. (cpm/Pfl.)	gefundener %Anteil
------------------	-------------------------------------	------------------------------	-----------------------

antosid B

<u>Purp. A</u>		in Glucoeva- tromonosid	
48	1710	2598	152
49	1710	3936	230
50	1710	3414	200
51	1880	2937	156
52	1710	2200	129
53	1710	1526	89

ucogitorosid

Odoreobiosid G

14	6000	3150	52,5
13	5500	2300	41,8
17	7000	3400	48,6
15	6000	2247	37,4
16	6000	2714	45,2
18	5000	1917	38,3

Glucodigitoxigenin-

glucomethylosid

in Glucovero-
doxin (+ 5a)

14	16056	4390	27,3
13	14718	3120	21,2
17	18730	3675	19,6
15	16056	3123	19,5
16	16056	2200	13,7
18	13380	1438	10,7

Tabelle 27c

V. = Verunreinigung	applizierte Aktivität (cpm/Pfl.)	gefundene Akt. (cpm/Pfl.)	gefundener %Anteil
---------------------	-------------------------------------	------------------------------	-----------------------

Glucolanadoxin

V. Glucogitorosid

1	4300	8580	200
2	3870	7575	196
3	4300	5144	120
5	4300	2704	63
6	3870	2878	74
4	3870	1298	33,5

Digitalinum verum

V. Glucogitofucosid

38	2720	1700	62,5
36	3790	2165	57
37	4082	3103	76
39	3402	1764	52
41	3110	2040	65,6
40	3693	1967	53,2

V. Glucodigifucosid

38	16867	6777	40,2
36	23493	9648	41
37	25300	11448	45,2
39	21084	7316	34,7
41	19277	9857	51
40	22890	8480	37

belle 27d

= Verunreinigung	applizierte Aktivität (cpm/Pfl.)	gefundene Akt. (cpm/Pfl.)	gefundener %Anteil
<u>ucogitofucosid</u>			
<u>D.verum</u>			
20	2826	4250	150,3
19	3230	2928	90,6
21	2826	2910	103
22	3430	2663	77,6
23	3028	2920	96,4

8. Literaturverzeichnis

- 1) William Withering:
An account of the Foxglove and some of its medical uses:
With practical remarks on dropsy, and other diseases.
M. Swinney: Birmingham 1785
Übersetzung ins Deutsche von F. Johannessohn
(C.F. Boehringer: Mannheim 1929 und 1964)
- 2) A. Overhamm:
Zur Geschichte der Digitalis unter besonderer Berücksichtigung ihrer äußerlichen Anwendung.
Dissertation, Univ. Marburg 1976
(Quellen und Studien zur Geschichte der Pharmazie, Band 13)
- 3) S. Smith:
Digoxin, a new Digitalis Glucoside
J. Chem. Soc. (1930), 508
- 4) A. Stoll und W. Kreis:
Die genuinen Glykoside der Digitalis lanata, die Digilanide A, B und C.
Helv. Chim. Acta 16, 1049 (1933)
- 5) A. Stoll und W. Kreis:
Genuine Glucoside der Digitalis purpurea, die Purpureaglykoside A und B.
Helv. Chim. Acta 18, 120 (1935)
- 6) F. Kaiser:
Chromatographische Analyse der herzwirksamen Glykoside von Digitalis-Arten.
Arch. Pharm. 299, 263 (1966)

- 7) J.v. Euw und T. Reichstein:
Biosynthese des Digitoxigenins, Herkunft des C-20.
Helv. Chim. Acta 47, 711 (1964)
- 8) R. Tschesche und G. Lilienweiss:
Cardenolidbiosynthese aus Pregnenolonglucosid.
Naturforsch. 19b, 265 (1964)
- 9) H.H. Sauer, R.D. Bennet und E. Heftmann:
Pregnenolon metabolism in *Digitalis lanata*.
Phytochemistry 6, 1521 (1967)
- 10) E. Caspi, D.O. Lewis, D.M. Piatak, K.V. Thimann und A. Winter:
Biosynthesis of plant sterols. Conversion of cholesterol
to pregnenolone in *Digitalis purpurea*.
Experientia 22, 506 (1966)
- 11) R.D. Bennet, E. Heftmann und B.J. Winter:
Conversion of Sitosterol to Progesterone by *Digitalis lanata*.
Naturwissenschaften 56, 463 (1969)
- 12) R. Tschesche, R. Becker und R. Hombach:
Hydroxylierungen im Verlauf der Cardenolidbiogenese.
Naturforsch. 23b, 1615 (1968)
- 13) R. Tschesche und R. Becker:
Hydroxylierungen bei der Cardenolidbiogenese in Abhän-
gigkeit von der Substitution am Sterangerüst.
Naturforsch. 25b, 107 (1970)
- 14) M. Wichtl:
Über die Glykoside der Keimblätter von
Digitalis lanata Ehrh.
Sci. Pharm. 40, 242 (1972)

- 15) S.J. Balbaa, S.H. Hilal und M.Y. Haggag:
A study of the yield and glycosidal content of the leaves of *Digitalis lanata* at different stages of plant growth.
Planta Med. 18, 254 (1970)
- 16) P. Nánási, B. Lenkey und P. Tétényi:
Investigations of biosynthesis of lanatoside glycosides by the means of tritium labelled genins.
Planta Med. 26, 359 (1974)
- 17) P. Nánási, B. Lenkey und P. Tétényi:
Cardenolide glycoside production in *Digitalis lanata*.
Phytochemistry 14, 1755 (1975)
- 18) F. Kaiser:
Die quantitative Glykosidzusammensetzung der Samen von *Digitalis*-Arten.
Arch. Pharm. 300, 201 (1967)
- 19) E.W. Weiler und M.H. Zenk:
Radioimmunoassay for the determination of Digoxin and related compounds in *Digitalis lanata*.
Phytochemistry 15, 1537 (1976)
- 20) F.J. Evans und P.S. Cowley:
Incorporation of $^{14}\text{CO}_2$ into cardenolide and sapogenin steroids of *Digitalis purpurea*.
Phytochemistry 12, 791 (1973)
- 21) J. Frijns:
Chromatografische isolering en direkte spektrofluorimetrische bepaling op het chromatogram van geneesmiddelen in microgram-dosering. I. Onderzoek van injectievloeistoffen bevattende Digoxine, Digitoxine en Acetyldigitoxine.
Pharm. Weekbl. 105, 209 (1970)

22) B. Lugt:

Quantitative determination of Digitoxin, Gitaloxin, Gitoxin, Verodoxin and Strosposid in the leaves of *Digitalis purpurea* by means of fluorescence.

Planta Med. 23, 176 (1973)

23) B. Lugt und L. Noordhoek-Ananias:

Quantitative fluorimetric determination of the main cardiac glycosides in *Digitalis purpurea*.

Planta Med. 25, 267 (1974)

24) J. van Oostveen:

De kwantitatieve bepaling van Digoxine in biologisch materiaal.

Pharm. Weekbl. 111, 21 (1976)

25) F. Hammerstein und F. Kaiser:

Quantitative Direktauswertung von Arzneipflanzen-extrakten auf Dünnschichtchromatogrammen.

Planta Med. 21, 5 (1972)

26) P.A. Linley:

The evaluation of *Digitalis purpurea* by direct densitometry from paper chromatograms.

Planta Med. 23, 272 (1973)

27) B. Lugt:

Variability in the occurrence of formylated digitalose glycosides in *Digitalis purpurea* L.

Pharm. Weekbl. 111, 441 (1976)

28) J. v. Euw und T. Reichstein:

Biosynthese der Digitoxose in *Digitalis lanata* Ehrh.

Helv. Chim. Acta 49, 1475 (1966)

- 29) L. Fuchs, M. Wichtl und H. Jachs:

Einfluß der Trocknungstemperatur auf die Zusammensetzung des Glykosidgemisches in Digitalisblättern (Digitalis purpurea L. und Digitalis lanata Ehrh.) Arch. Pharm. 293, 414 (1960)

- 30) M. Wichtl:

Die Pharmakognostisch - Chemische Analyse, Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt/M. 1971, 397

- 31) L. Fuchs, M. Wichtl und H. Jachs:

Die quantitative papierchromatographische Bestimmung von Digitalis-Glykosid-Gemischen. Arch. Pharm. 291, 193 (1958)

- 32) E. Ramstad und J.L. Beal:

Mevalonic acid, precursor of Digitoxigenin. Chem. Ind. (London) 13, 177 (1960)

- 33) J.C. Turner:

Sample preparation for liquid scintillation counting. The Radiochemical Centre Amersham England. Review 6, 16 (1967)

Lebenslauf

Ich wurde am 7. Januar 1950 als Tochter des Finanzbeamten Ernst Freier und seiner Ehefrau Berta, geb. Otten, in Bokel Kreis Wesermünde geboren.

1954 verlegten meine Eltern ihren Wohnsitz nach Bremerhaven, wo ich 1956 in die Grundschule kam. Von 1962 an besuchte ich das Theodor-Storm-Gymnasium in Bremerhaven und machte dort 1968 das Abitur.

Meine pharmazeutische Ausbildung begann mit einer zweijährigen Praktikantenausbildung in der Neptun-Apotheke in Bremerhaven, die ich 1970 mit der Pharmazeutischen Vorprüfung abschloß.

Im Wintersemester 1970/71 nahm ich das Pharmaziestudium an der Philipps-Universität in Marburg auf und machte im Oktober 1973 das Pharmazeutische Staatsexamen.

Im Januar 1974 begann ich am Institut für Pharmazeutische Biologie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Wichtl die vorliegende Arbeit.

Seit April 1975 bin ich als wissenschaftliche Angestellte am Institut für Pharmazeutische Biologie beschäftigt.

